

JULIO ORLANDO TIRAPEGUI TOLEDO

**EFEITO DA SOMATOMEDINA C NO CRESCIMENTO DO
MÚSCULO E DO OSSO. ESTUDO EM RATOS SUBMETIDOS A
GRAUS VARIÁVEIS DE ENERGIA E PROTEÍNA DA DIETA**

**Tese apresentada à
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo, para o
concurso de Livre-Docência junto ao
Departamento de Alimentos e
Nutrição Experimental**

**SÃO PAULO
1995**

*Dedico esta tese
à minha família,
pelo carinho e apoio*

AGRADECIMENTOS

Durante a elaboração deste trabalho houve a colaboração de pessoas e Instituições a quem expressamos o nosso agradecimento. Dentre estes, gostaríamos de destacar:

Ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, na pessoa de seu chefe, Prof.Dr. Jorge Mancini Filho, pelo apoio e estímulo.

A nossos colegas do laboratório de Nutrição, Profa.Dra. Célia Colli, Prof.Dr. Fernando Moreno e Profa.Dra. Silvia Cozzolino, pela amizade e solidariedade.

À FAPESP, CNPq e CAPES, que sempre nos tem apoiado, outorgando-nos Bolsas de Estudos, Auxílio à Pesquisa, Auxílio à Viagens ao Exterior e continuam acreditando e prestigiando nosso trabalho.

Ao Prof.Dr. Angelo Rafael Carpinelli e a Técnica Sandra Marlene Santos Rocha, do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, pela colaboração na dosagem da insulina plasmática.

Aos funcionários técnicos e administrativos que nos tem ajudado em nosso trabalho.

A nossos alunos de graduação e pós-graduação que, de forma indireta e anônimamente, nos estimulam permanentemente para o aperfeiçoamento de nossa missão.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Proteína e Crescimento	1
1.2	Justificativa e Objetivo	3
1.3	Revisão da Literatura	4
1.3.1	Conceitos Históricos	4
1.3.2	Tipos de Somatomedinas	5
1.3.3	Ação da Somatomedina nos Tecidos	9
1.3.4	Regulação Hormonal e Nutricional da Somatomedina	11
2	MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1	Animais de Experiência	20
2.2	Dietas Experimentais	20
2.3	Procedimento Experimental	20
2.3.1	Primeiro Experimento	20
2.3.2	Segundo Experimento	21
2.4	Coleta do Material	22
2.5	Métodos Analíticos	22
2.5.1	Dosagem de Proteínas nos Tecidos	22
2.5.2	Determinação do Ácido Ribonucléico nos tecidos	22
2.5.3	Comprimento da Tibia	22
2.5.4	Determinação no Plasma	23
2.5.5	Determinação da Concentração e Atividade da Somatomedina C nos Tecidos	23
2.5.6	Determinação de Síntese Protéica	23
2.5.7	Análise Estatística	23

3	RESULTADOS	24
3.1	Peso Corporal, Peso do Músculo Gastrocnêmio e Consumo de Ração	24
3.2	Crescimento da Tibia	25
3.3	Insulina e Somatomedina C Plasmática	25
3.4	Parâmetros Analisados no Músculo Gastrocnêmio	26
3.5	Parâmetros Analisados na Cartilagem da Epífise da Tibia	27
4	DISCUSSÃO	39
5	CONCLUSÕES	53
6	RESUMO	55
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1 INTRODUÇÃO

1.1 Proteína e Crescimento

O desenvolvimento normal do indivíduo é caracterizado por um anabolismo intenso e de suprimento adequado de nutrientes que são dirigidos para os processos de multiplicação celular, crescimento esquelético e material de reserva (MILLWARD e cols., 1986, MILLWARD, 1989a, MILLWARD, 1989b, PHILLIPS e cols., 1990, THISSEN e cols., 1994, MILLWARD e cols., 1994). As proteínas exercem papel fundamental neste processo, pois o desenvolvimento é padronizado e regulado pela síntese de diferentes proteínas de funções específicas (WARTELOW e cols., 1978). Conforme relatam estes autores, existem vários fatores que condicionam o crescimento do indivíduo e, entre estes, a relação proteína/calorias totais e a energia total desempenham papel importante no aproveitamento da dieta e consequentemente, no crescimento corporal.

A inibição do crescimento corporal como consequência de um reduzido crescimento ósseo é observada em crianças de países em desenvolvimento, sendo este fenômeno frequentemente acompanhado por alterações das relações peso/altura e peso/idade (MARTORREL e cols., 1988, OCLOO, 1993).

A desnutrição protéico-calórica e enfermidades infecciosas são os dois fatores ambientais mais importantes que afetam o crescimento corporal (GOLDEN, 1985).

As repercussões das carências nutricionais dependem do momento do crescimento em que estas deficiências ocorrem, pelo fato das necessidades do indivíduo e animais de laboratório variarem de acordo com a idade. Além disso, a duração e intensidade da restrição energética são fatores que determinarão se as alterações serão ou não permanentes (TIRAPEGUI e DE ANGELIS, 1985a, ASWORTH e MILLWARD, 1986, TIRAPEGUI e cols., 1993a, TIRAPEGUI, e cols., 1993b, KUSIN e cols., 1993).

O crescimento em altura é particularmente sensível à desnutrição. Crianças em fase de crescimento que moram em regiões onde os alimentos básicos de maior consumo são de má qualidade protéica, apresentam menor altura corporal, porém, o mesmo peso das crianças que ingerem uma dieta com alto teor de proteína de origem vegetal de boa qualidade (GOLDEN, 1985). Estes estudos demonstraram que a redução da velocidade do crescimento é consequência direta da deficiência calórico-protéica. Em outros estudos foram relatados que, crianças alimentadas com leite desengordurado apresentaram altura normal, porém, uma deficiência no peso corporal em relação àquelas que ingeriram mais energia (FOMAN e cols., 1977). Crianças prematuras alimentadas com uma fórmula semelhante ao leite humano apresentaram melhor crescimento dos ossos longos quando comparadas com crianças alimentadas com leite de baixo teor protéico (McINTOSH e cols., 1977).

Trabalhos de vários autores têm evidenciado que a desnutrição protéico-calórica, em animais jovens, pode resultar num retardo do crescimento e que a probabilidade de lesão permanente é tanto maior quanto mais precoce for a agressão (WINICK e NOBLE, 1966, TIRAPEGUI e DE ANGELIS, 1985a, TIRAPEGUI e DE ANGELIS, 1985b, TIRAPEGUI e cols., 1993b).

Há uma relação entre o crescimento ósseo e muscular, evidenciada pelo fato de que o comprimento do osso é o determinante primário da massa muscular corporal em todas as espécies. Desta forma, no adulto, quando o crescimento cessa, o crescimento do músculo é mínimo. No entanto, o crescimento do músculo pode ser induzido experimentalmente, em resposta ao exercício isométrico ou estiramento (MILLWARD, 1980). Nesse caso, o crescimento muscular por estiramento é independente de fatores hormonais ou nutricionais. Tem sido sugerido que o estiramento muscular por efeito do crescimento ósseo, ao qual o músculo está unido, é um pré-requisito para o crescimento do músculo e determina o crescimento coordenado destes dois tecidos. Esta teoria está de acordo com o fato de que a única ocasião na qual o crescimento do músculo pode ser

acelerado é durante a recuperação nutricional, após um quadro de desnutrição (ASHWORTH e MILLWARD, 1986). Neste caso, a desnutrição provocaria uma perda muscular e a relação massa muscular/comprimento do osso estaria diminuída e, com a recuperação nutricional, o estímulo para o crescimento seria aumentado até que a relação peso/altura fosse restabelecida em níveis normais. Assim, o crescimento rápido do músculo cessaria imediatamente.

Além dos fatores nutricionais, o crescimento normal depende também, de uma regulação coordenada de fatores hormonais. Estas evidências, acumuladas nos últimos anos, sugerem que muitas das influências hormonais no crescimento são reguladas pela família das somatomedinas.

1.2 Justificativa e Objetivo

O objetivo deste trabalho é determinar a influência da energia e da proteína da dieta na regulação do crescimento em altura.

Tem sido proposto que a energia e a proteína da dieta são as determinantes primárias da concentração da somatomedina C durante o crescimento e que, este hormônio é o principal regulador do crescimento ósseo. Desta forma, a proteína e a energia da dieta, através da influência dos níveis da somatomedina C, terá um papel importante na regulação coordenada do crescimento ósseo e muscular.

Com o resultado desta pesquisa teremos condições de compreender melhor:

- a) o papel da proteína e energia da dieta na regulação do crescimento em altura;
- b) o papel da somatomedina C na regulação do crescimento coordenado do músculo e osso;
- c) a regulação hormonal da síntese protéica e do crescimento do músculo e osso ao nível celular.

1.3 Revisão da Literatura

1.3.1 Conceitos Históricos

O mecanismo de ação dos hormônios relacionados com o crescimento é muito complexo. Uma das principais áreas de controvérsias consistia em determinar se o hormônio de crescimento atuaria diretamente ao nível celular ou se agiria de maneira indireta, estimulando a produção de um fator de crescimento (SALMON e DAUGHDAY, 1957, VAN WYK e cols., 19784, PELL e BATES, 1990, ROSS e BUCHANAN, 1990).

Em 1957, SALMON e DAUGHADAY estudaram o mecanismo de ação do hormônio de crescimento na cartilagem de ratos, pois o crescimento do esqueleto envolve a proliferação celular deste tecido. Observaram também, em estudos realizados em ratos hipofisectomizados, que a administração do hormônio de crescimento causava um rápido aumento na capacidade de captação de sulfato radioativo pela cartilagem "in vivo". Inicialmente, a incorporação do sulfato radioativo na cartilagem foi usada como índice para medir o crescimento deste tecido, contudo foi demonstrado que, este efeito não ocorria quando células da cartilagem de ratos hipofisectomizados eram incubadas "in vitro" em conjunto com o hormônio de crescimento. Nestas experiências, a incorporação de sulfato radioativo ocorreu somente quando foi adicionado ao cultivo de células da cartilagem, soro de ratos normais ou hipofisectomizados que haviam sido tratados previamente com o hormônio de crescimento. Estes autores sugeriram que o hormônio de crescimento estimularia o crescimento esquelético por meio de um fator de sulfatação (SALMON e DAUGHADAY, 1957).

Em uma série de estudos, os autores ALMOVIST e RUNE (1961), ALMOVIST e FALKHEDEN (1961), confirmaram a presença do fator de sulfatação no soro de humanos e sua dependência do hormônio de crescimento, pois era estável e conservava a atividade após a ebulição. Como não era permeável à membranas de diálises foi postulado como sendo de grande tamanho. Este fator atuaria na cartilagem, estimulando

a proliferação celular e síntese protéica, de proteoglicano, de DNA e de RNA (SALMON e DUVALL, 1970). Com base nestes estudos, foi reconhecido que a denominação "fator de sulfatação" era muito restrita, pois foi comprovado que este fator não atuava somente no tecido ósseo, mas também, em vários outros tecidos.

Este fator foi parcialmente purificado e constatado que possuía atividade semelhante à insulina, entretanto, quando em contato com anticorpo anti-insulina, só uma pequena parte de sua atividade era suprimida (FROESCH e cols., 1963).

Posteriormente foi comprovado que este fator era 20 vezes mais potente que a insulina em estimular a captação de timidina marcada pelo DNA em fibroblasto (MORREL e FROESCH, 1973).

RINDERKNECHT e HUMBEL (1976) isolaram 2 peptídeos de plasma humano, sendo que um deles era de tipo básico e continha 70 aminoácidos e o segundo, era ligeiramente ácido, contendo 67 aminoácidos. Esses dois peptídeos tinham 70% de seus aminoácidos semelhantes e estrutura 50% similar com a pró-insulina.

Da semelhança estrutural e funcional destes peptídeos com a insulina originaram os nomes propostos de insulin-like growth factor-I e II (IGF-I e IGF-II) para as somatomedinas C e A, respectivamente.

1.3.2 Tipos de Somatomedinas

O fator de sulfatação foi denominado somatomedina (DAUGHADAY e cols., 1972), sendo descritos atualmente dois tipos de somatomedinas que estão relacionadas com o crescimento somático: a somatomedina C ou IGF-I (Insulin-Like Growth Factor-I) que, estimula principalmente a captação do sulfato pela cartilagem e a somatomedina A ou IGF-2, que

regula o crescimento durante a gestação (FROESCH e ZAPF, 1985, ZAPF e FROESCH, 1986, GOLDSTEIN e cols., 1987, CLEMMONS, 1989, PHILIPS e cols., 1990).

Estruturalmente, as somatomedinas C e A possuem uma cadeia polipeptídica com pesos moleculares de 7,6 e 7,7 daltons, respectivamente, apresentando estruturas semelhantes com a pró-insulina (RINDERKNECHT e HUMBEL, 1978, FROESCH e ZAPF, 1985, PHILLIPS e cols., 1990) que equivalem a 43% para somatomedina C e 41% para somatomedina A, com sequência de aminoácidos entre elas de 65%.

Esta estrutura primária semelhante entre somatomedinas e insulina permite interação entre seus receptores nas células dos tecidos. A insulina pode unir-se aos receptores de somatomedina em uma proporção de 1% e as somatomedinas A e C, em proporção de 2%. Apesar desta interação entre receptores, a somatomedina C não exerce estímulo tão eficiente quanto a insulina sobre algumas funções metabólicas a nível celular (FROESCH e ZAPF, 1985, PHILLIPS e cols., 1990, PABLO e cols., 1990).

Não há dúvida de que o fígado produz e secreta somatomedinas em resposta ao hormônio de crescimento, contudo, as mesmas, intervém por um mecanismo de "feed-back" na liberação do hormônio de crescimento (PELL e BATES, 1990, ROSS e BUCHANAN, 1990, SILVA e TIRAPEGUI, 1994).

A liberação do hormônio de crescimento é determinada por um equilíbrio dinâmico de peptídeos hipotalâmicos com estímulos inibitórios e estimulantes, que são a somatostatina e o hormônio de liberação do hormônio de crescimento (GHRH - growth hormone - releasing hormone), respectivamente. A somatomedina desempenha importante papel no mecanismo de regulação deste processo. Em concentrações altas a somatomedina C suprime a secreção do hormônio de crescimento em dois níveis: no hipotálamo, estimula a liberação da somatostatina, que inibe a secreção do hormônio

de crescimento e na hipófise, inibe a síntese do hormônio de crescimento em resposta ao hormônio de liberação do hormônio de crescimento (GHRH).

Tem sido demonstrado em ratos, que a somatomedina C diminui após a hepatectomia parcial (UTHNE e UTHNE, 1972), voltando aos níveis normais com a regeneração hepática.

Trabalhos de vários autores (SCHWANDER e cols., 1983, ZAPF e FROESCH, 1986, PHILLIPS e cols., 1990) sugerem que a somatomedina é sintetizada no fígado. D'ERCOLE e cols. (1984) detectaram somatomedina C de vários tecidos, após a administração do hormônio de crescimento em ratos hipofisectomizados. A somatomedina C foi determinada em rins, fígado, pulmões, coração e testículos, o que reforça o conceito de que o hormônio pode atuar por meio de um mecanismo parácrino e autócrino, sendo produzido em múltiplos sítios e atuando próximo a estes.

Alguns autores sugerem que as somatomedinas de origem hepática e liberadas na circulação são responsáveis pelas ações endócrinas destes hormônios. A síntese e a liberação da somatomedina C por outros tecidos extrahepáticos estão relacionadas com os efeitos parácrinos e autócrinos da somatomedina C (SCHLECHTER e cols., 1986, PHILLIPS e cols., 1990, DAUGHADAY, 1990, CLEMMONS e UNDERWOOD, 1991). Efeitos parácrinos e autócrinos das somatomedinas, especialmente da somatomedina A ou IGF-II foram, encontrados recentemente, em células tumorais de diferentes tecidos (DAUGHADAY, 1990). Estas células tumorais contêm receptores para somatomedina C e a atividade mitogénica delas estão aumentadas quando a somatomedina C é agregada ao meio de cultura. Assim, por exemplo, certos tumores produzem somatomedina A em quantidades elevadas que suprime a secreção do hormônio de crescimento e da somatomedina C induzindo, conseqüentemente, a hipoglicemia.

A somatomedina C parece ser a principal somatomedina presente em humanos e ratos em crescimento. Sua vida média pode ser medida em horas e se encontra no sangue, formando complexos com proteínas transportadoras ou IGF-binding proteins (IGF-BP) (ZAPF e FROESCH, 1986, BAXTER e MARTIN, 1989, RUTANEN e PEKONEN, 1990, THISSEN e cols., 1994).

A informação científica em relação as proteínas transportadoras de somatomedina C ou IGF-BPs está aumentando rapidamente. Atualmente são descritas 6 proteínas transportadoras diferentes (SARA e HALL, 1990, RUTANEN e PEKONEN, 1990, THISSEN e cols., 1994), no entanto, somente em 3 foram caracterizadas suas propriedades e determinada sua sequência em aminoácidos e dado a denominação de IGF-BP-1, 2 e 3. Em relação as outras 3, denominadas como, IGF-BP-4, 5 e 6, suas ações ainda não estão esclarecidas. Entre todas as IGF-BPs descritas existem duas principais no soro de humanos: uma com peso molecular de 150 KDa, dependente do hormônio de crescimento e predomina no soro de adultos e, a outra, com peso molecular de 30-40 KDa, não é dependente do hormônio de crescimento e predomina em plasma de feto (PHILLIPS e cols., 1990, CLEMMONS e UNDERWOOD, 1991). A proteína transportadora de maior peso molecular foi denominada IGF-BP-3 e sua concentração plasmática é relativamente constante durante o dia variando com a idade, gestação, estado nutricional e somatomedina C (DAVENPORT e cols., 1990, RUTANEN e PEKONEN, 1990, SARA e HALL, 1990, CLEMMONS e cols., 1990, MARTIN e BAXTER, 1990). A IGF-BP-3 transporta mais de 90% da somatomedina C plasmática e se tem verificado que não cruza o endotélio capilar (BAXTER, 1991). Sua vida média é de 3-6 horas em ratas (ZAPF e cols., 1986) e de 12-15 horas em humanos (GULER e cols., 1989). A proteína transportadora de menor peso molecular ou IGF-BP-1 apresenta maiores concentrações plasmáticas durante o dia e menores na noite e, além disso, pode cruzar o endotélio capilar. A concentração plasmática da IGF-BP-1 diminui com a ingestão de nutrientes,

especialmente, glicose e com o aumento da concentração plasmática de insulina (CONOVER e cols., 1990, SNYDER e CLEMMONS, 1991).

Outros autores (DE MELLOW e BAXTER, 1988, HOLLY e WASS, 1989) comprovaram que a concentração plasmática de IGF-BP-1 é inversamente proporcional a concentração do hormônio de crescimento, apresentando valores maiores na deficiência do hormônio de crescimento e valores menores na acromegalia. Em geral a restrição alimentar diminui a concentração plasmática da IGF-BP-3 e aumenta as concentrações do IGF-BP-1 e IGF-BP-2.

A função fisiológica das BPs ainda não está completamente clara. Uma das funções que lhes têm sido atribuídas é a de proteger a somatomedina da degradação e prolongar sua vida média, restringindo o acesso aos sítios de degradação (HOLLY e WASS, 1989, RUTANEN e PEKONEN, 1990, SARA e HALL, 1990, CLEMMONS e UNDERWOOD, 1991).

1.3.3 Ação da Somatomedina nos Tecidos

Não há dúvida quanto aos efeitos da somatomedina C na regulação do crescimento esquelético, contudo, a ação deste hormônio em outros tecidos não está totalmente evidenciada. Em muitos aspectos, os efeitos da somatomedina C são semelhantes aos da insulina (FROESCH e ZAPF, 1985). No músculo, a somatomedina C estimula o transporte de aminoácidos e glicose, assim como a síntese de glicogênio e proteína (ZAPF e FROESCH, 1986, TIRAPEGUI e cols., 1990, PHILLIPS e cols., 1990, DIMIATRIS e cols., 1992, TIRAPEGUI e cols., 1993c). No tecido adiposo, estimula o transporte e facilita a oxidação de glicose e a síntese de lipídeos (PHILLIPS e cols., 1990). Em cultivo de tecidos, a somatomedina C estimula a multiplicação celular (CANALIS e cols., 1988, MAOR e cols., 1993).

A semelhança estrutural entre Somatomedina C e insulina poderia ser o provável fundamento de suas

propriedades biológicas anabólicas. Os efeitos metabólicos são regulados pela interação com os receptores específicos da somatomedina (SALMON e DAUGHADAY, 1957, FROESCH e ZAPF, 1985, ZAPF e FROESCH, 1986, CLEMMONS, 1989, PABLO e cols., 1990).

A ação da somatomedina C na cartilagem é antagonizada pelos denominados inibidores de somatomedina. Estes fatores se encontram em soro de ratos em jejum, diabéticos, hipofisectomizados ou em soro de humanos desnutridos (PHILLIPS e cols., 1989, UNTERMAN e PHILLIPS, 1985, VASSILOPOULOU-SELLIN e cols., 1988) e são sintetizados pelo fígado. Foi demonstrado que estes inibidores são peptídeos de peso molecular de 20.000 a 30.000 que inibem as ações da somatomedina C e da insulina em células de cartilagem, de tecido adiposo e muscular. Essa interação, que parece ser do tipo não competitivo, ainda não está completamente clara em relação a seu papel fisiológico. Possivelmente estaria comprometida em algum mecanismo adicional, desconhecido, que limitaria o crescimento esquelético, conservando os nutrientes para funções mais prioritárias em condições de deficiência nutricional e hormonal (VASSILOPOULOU-SELLIN e cols., 1988).

Existem evidências em modelos experimentais de jejum e recuperados, de que os inibidores de somatomedina respondem mais rapidamente que a somatomedina C às alterações nutricionais (GOLDSTEIN e PHILLIPS, 1989). Ratos em jejum apresentaram um aumento rápido na concentração de inibidores da somatomedina. Conseqüentemente, os valores de somatomedina C diminuíram gradualmente. Essas alterações nas concentrações em resposta a fatores nutricionais refletem uma liberação alternada destes compostos pelo fígado.

PHILLIPS e cols. (1989) levanta a hipótese que a IGF-BP-1 poderia ser a inibidora da somatomedina C, pelo fato da concentração plasmática da IGF-BP-1 estar aumentada no jejum e na diabete de forma similar ao inibidor de somatomedina C. No entanto é pouco provável que o IGF-BP-1 e o inibidor sejam o mesmo composto.

O inibidor não se une a somatomedina C marcada e sua ação é independente da presença de somatomedina C (THISSEN e cols., 1994). Estas observações sugerem que o inibidor não é um antagonista específico para somatomedina C, mas sim, um inibidor do crescimento em geral e apresentando outras propriedades, também.

1.3.4 Regulação Hormonal e Nutricional da Somatomedina C

Além desses inibidores, alguns autores têm verificado que fatores hormonais também controlam a ação da somatomedina C. Sendo assim, por exemplo, tem sido comprovado que a administração de estreptozotocina em ratos induz uma deficiência de insulina e a atividade de somatomedina C sofre uma rápida queda, alcançando, após um dia, valores similares aos observados em ratos hipofisectomizados (PHILLIPS e cols., 1985, TAYLOR e cols., 1987, GAGLIARD e cols., 1990). Esta queda parece ser devida, em parte, à presença de inibidores de somatomedina C. Observou-se também que a diminuição da atividade de somatomedina C foi seguida de uma diminuição do crescimento da cartilagem, alcançando valores similares aos observados após dois dias de administração de estreptozotocina. Estes estudos sugerem que, apesar da grande quantidade de nutrientes circulantes (glicose, aminoácidos e ácidos graxos), a falta de insulina provoca uma diminuição da atividade de somatomedina C, refletindo na diminuição da incorporação de sulfato na cartilagem e detenção do crescimento. A administração posterior de insulina diminuiu a atividade dos inibidores de somatomedina e o crescimento dos animais foi restabelecido (TAYLOR e cols., 1987).

Com relação aos hormônios da tiróide, GATE e cols. (1993) comprovaram em carneiros, uma correlação altamente significativa entre o hipotiroidismo dos animais e os níveis reduzidos da somatomedina C plasmática encontrados. Comprovou-se em ratos em jejum que a administração de T_3 eleva a concentração de somatomedina C plasmática a níveis normais, sugerindo que este hormônio participa na regulação

da somatomedina C durante a restrição completa de nutrientes (IKEDA e cols., 1990). Em relação aos hormônios sexuais, vários autores sugerem que a castração está associada a diminuição da somatomedina C plasmática e a menor retenção de nitrogênio (PHILLIPS e cols., 1990, TAYLOR e cols., 1991).

UNTERMAN e PHILLIPS (1985) demonstraram que, a administração de glicocorticóides em ratos, aumentou a concentração de inibidores da somatomedina C circulante, com a consequente redução do crescimento dos animais.

Em relação aos efeitos inibitórios dos glicocorticóides na cartilagem da epífise da tibia há pouca discordância, contudo, na literatura científica, existem divergências em relação ao mecanismo de ação. Segundo alguns autores (VASSILOPOULOU-SELLIN e cols., 1988, GOLDSTEIN e PHILLIPS, 1989) a presença de inibidores da somatomedina C no soro seria a causa dos efeitos inibitórios observados no crescimento de animais em jejum, diabéticos, hipofisectomizados ou tratados com glicocorticóides.

VASSILOPOULOU-SELLIN e cols. (1988) observaram que a inibição da incorporação de sulfato em proteoglicano, de leucina marcada na proteína e de uridina marcada no RNA, se traduzia em uma diminuição no crescimento da cartilagem. TIRAPEGUI e cols. (1987b) verificaram que ratos tratados com corticosterona apresentavam os menores valores de atividade de somatomedina C na cartilagem e os menores valores plasmáticos de somatomedina C em relação ao grupo controle. Esta diminuição foi correlacionada no tecido ósseo com os valores de síntese protéica, conteúdos de RNA e a atividade de RNA que constitui a fase de tradução no mecanismo de síntese protéica.

Recentemente CONOVER e cols. (1993) observaram que a infusão de cortisol em humanos com hipoinsulinemia, como em situações de jejum ou diabete aumentava significativamente a concentração plasmática da IGF-BP-1. O significado funcional

deste fato é pouco claro, entretanto, é necessário salientar que a IGF-BP-1 inibe a ação da somatomedina C em vários sistemas "in vitro" (LIU e cols., 1991).

A ingestão de caloria e de proteína em quantidades adequadas constitui fator de grande importância na regulação dos níveis de somatomedina C plasmática e, conseqüentemente, no crescimento muscular e do tecido ósseo em animais e humanos em desenvolvimento. A proteína da dieta é necessária tanto para a manutenção da atividade da somatomedina C como para estimular o crescimento da cartilagem (UNDERWOOD e cols., 1986, YAHYA e cols., 1987, YAHYA e cols., 1988, YAHYA e cols., 1989, FLIESEN e cols., 1989, YAHYA e cols., 1990, PELL e BATES, 1992, THISSEN e cols., 1994). Estes autores demonstraram que dietas com 12% a 15% de proteína apresentam os maiores valores de somatomedina C plasmática em humanos e animais de laboratórios. No entanto, TIRAPEGUI e BALDI. (1993) não encontraram diferenças significativas nos níveis de somatomedina C plasmática em ratos alimentados com caseína 7,5% em relação ao grupo caseína 20% (controle). Segundo estes autores houve uma hiperfagia nos ratos alimentados com caseína 7,5% e o consumo total de ração foi maior que o grupo controle. O mecanismo deste processo ainda não está esclarecido.

Quanto ao excesso de proteína na dieta, existem poucas informações na literatura, relacionando as concentrações plasmáticas de somatomedina C e dietas hiperprotéicas. Segundo as últimas recomendações nutricionais para ratos, o teor protéico ideal para o crescimento é 17% de proteína (REEVES e cols., 1993). Dados de outros autores (EDOZIEN e SWITZER, 1978) comprovaram que ratos alimentados com graus variáveis de proteína acima de 20%, na dieta, diminuíram o crescimento dos animais. As explicações para este fato são desconhecidas, porém, sem dúvida, fatores neurológicos e endócrinos estão envolvidos neste processo.

Outros estudos (CLEMMONS e cols., 1985a) verificaram que a suplementação ou a recuperação com

aminoácidos essenciais aumenta significativamente a concentração plasmática de somatomedina C em modelos experimentais em jejum e recuperados.

Os autores CREE e SCHALCH (1985) demonstraram em ratos, que a deficiência de lisina compromete a utilização de proteínas para fins anabólicos, originando uma queda na velocidade de crescimento e diminuição dos níveis plasmáticos de somatomedina C. Resultados semelhantes foram obtidos por SCHALCH e CREE (1985) em ratos em crescimento submetidos a restrição calórica moderada e deficiência de lipídeos na dieta.

CARDOSO e TIRAPEGUI (1992), TIRAPEGUI e CARDOSO (1993), estudaram em ratos em crescimento, submetidos a dieta do Estado de São Paulo, com restrição de 50%, os níveis plasmáticos de somatomedina C e a síntese de proteoglicano na cartilagem da epífise da tibia. Apesar de serem encontradas diferenças significativas na síntese de proteoglicano, o mesmo não ocorreu quanto a concentração plasmática de somatomedina C. Possivelmente a deficiência de zinco comprovada na dieta experimental foi responsável pela diminuição da concentração da somatomedina C e menor crescimento ósseo, observadas nos ratos com restrição calórica.

YANG e cols. (1987) demonstraram que a redução moderada na ingesta de carboidratos e calorias em ratos está associada a uma diminuição significativa da concentração de somatomedina C no plasma. Também foi observado por estes autores, uma correlação significativa entre os níveis plasmáticos de somatomedina C e o retardo do crescimento dos animais, avaliados pelo menor peso e tamanho corporal.

Em relação aos minerais, trabalhos de vários autores (COSSACK, 1986, BOLZE e cols., 1987, DORUP e cols., 1991, FLYVBJERG e cols., 1991) demonstraram em animais, que a

deficiência de zinco, potássio e magnésio na dieta provoca uma diminuição da concentração plasmática de somatomedina C, do crescimento ósseo e do peso corporal.

CARA e cols. (1987) estudaram em adolescentes que os níveis plasmáticos de somatomedina C e a velocidade de crescimento em altura correlacionam-se somente no começo deste período até que cesse o crescimento da epífise, que ocorre sob a ação dos hormônios sexuais. É provável que a elevada concentração de somatomedina C nesta fase, reflita a elevada estimulação do crescimento ósseo cortical, muscular e do tecido adiposo que continua após a diminuição da velocidade do crescimento linear. Em adolescentes com anorexia nervosa, foi comprovado que a concentração plasmática de somatomedina C estava reduzida e a perda de peso desses pacientes estava correlacionada negativamente com os níveis plasmáticos da somatomedina C (COUNTS e cols., 1992).

Em crianças desnutridas, a concentração de somatomedina C plasmática é menor e inversamente proporcional à concentração do hormônio do crescimento (SMITH e cols., 1981).

Com relação a desnutrição em humanos, SOLIMAN e cols. (1986) estudaram as concentrações de insulina, hormônio de crescimento, somatomedina C, cortisol e albumina antes e após a recuperação nutricional de crianças desnutridas e crianças normais, porém, com baixo peso em relação à idade. Em crianças desnutridas, as concentrações de somatomedina C estavam reduzidas e o hormônio de crescimento e cortisol aumentados. Após a recuperação nutricional, estes valores retornaram aos níveis normais. Estes resultados sugerem que a concentração elevada do hormônio de crescimento na presença de baixa concentração de somatomedina C é um mecanismo de adaptação, cuja finalidade é entregar ácidos graxos provenientes do tecido adiposo, dado que a diminuição das concentrações de somatomedina C e insulina inibem a lipogênese. Este processo é responsável pelo aporte de ácidos graxos que serão utilizados pelo cérebro e tecidos

periféricos. O intenso catabolismo de proteínas musculares em crianças desnutridas (devido ao aumento da concentração de cortisol) é responsável pela entrega adequada de aminoácidos para o fígado. Estes aminoácidos irão para a neoglicogênese e síntese protéica hepática, evitando, assim, o aparecimento da hipoglicemia e hipoalbuminemia em crianças com desnutrição protéico-calórica.

Apesar de sabermos que a somatomedina C estimula o crescimento da cartilagem, pouco se sabe sobre o mecanismo de ação "in vivo". Alguns autores têm estudado a ação da somatomedina C na síntese protéica no músculo e tecido ósseo contudo, os resultados obtidos não são conclusivos (SALMON e DUVALL, 1970, ZAPF e FROESCH, 1986). Estes estudos sugerem que a somatomedina C atuaria em ambos tecidos, de maneira similar à insulina. Devido à semelhança dos receptores da somatomedina C e da insulina, a ação da somatomedina C no músculo "in vitro" poderia sugerir uma ação via receptor de insulina (FROESCH e ZAPF, 1985, PHILLIPS e cols., 1990, CLEMMONS e UNDERWOOD, 1991). No entanto, isto é pouco provável, porque não explicaria a dificuldade de induzir crescimento muscular depois da detenção do crescimento ósseo em adolescentes.

Em relação ao mecanismo de ação "in vivo", BATES e cols. (1987) em um estudo com ratos previamente tratados com estreptozotocina por três dias e posteriormente, tratados com insulina não obtiveram correlação entre síntese protéica na cartilagem e insulina. Esses estudos sugerem que a síntese protéica na cartilagem não é controlada pela insulina e sim pela somatomedina C.

TIRAPEGUI e cols. (1993a) em um estudo realizado em ratos submetidos a dieta hipoprotéica observaram que a síntese protéica na cartilagem da epífise da tibia estava positivamente correlacionada com a concentração de somatomedina C e incorporação de sulfato em proteoglicano. Os menores valores da síntese protéica, atividade e conteúdo de RNA foram observados nos ratos submetidos à dieta de caseína

0,5%. YAHYA e cols. (1988), YAHYA e cols. (1990) também observaram diminuição da síntese protéica, atividade e conteúdo de RNA na cartilagem da epífise da tibia. Segundo estes autores, as análises da correlação parcial das diferentes variáveis estudadas, sugerem que a somatomedina C óssea regula, especificamente, os mecanismos da síntese de proteína e proteoglicano da cartilagem. No músculo, por outro lado, a síntese protéica seria regulada principalmente pela ação da insulina.

Estes resultados estão de acordo com os dados apresentados por MARTINEZ e cols. (1993). Estes autores também observaram em ratos, uma correlação positiva nos valores de síntese protéica obtidos no tecido ósseo e a concentração plasmática de somatomedina C. Os menores valores obtidos foram nos ratos alimentados com proteína de origem vegetal com teores de 13%, quando comparados com o grupo controle, caseína. Possivelmente, fatores antinutricionais presentes nos legumes utilizados, foram os responsáveis pelo menor aproveitamento da proteína de origem vegetal e conseqüentemente, do menor crescimento do tecido ósseo dos animais.

Recentemente, THIESSEN e UNDERWOOD (1992) verificaram em ratos alimentados com caseína 5% uma redução de 54% na concentração plasmática da somatomedina C. No fígado, o m-RNA estava diminuído em 35% em relação ao grupo controle e a quantidade de polissomas apresentou uma diminuição de 30%, valor similar aos observados com o m-RNA. Os resultados destes autores sugerem que dietas hipoprotéicas diminuem a eficiência da transcrição no mecanismo da síntese protéica no fígado. Outros autores constataram este mesmo fenômeno em ratos submetidos à restrição energética (STRAUSS e TAKEMOTO, 1990). A realimentação destes animais aumentou a concentração de m-RNA a níveis normais. Estes estudos sugerem que tanto a proteína como a energia da dieta controlam a síntese de somatomedina C a nível de m-RNA.

CLEMMONS e UNDERWOOD (1991) analisaram a nível celular a ação da somatomedina C, hormônio de crescimento e IGF-BP em situações de deficiência alimentar; as principais conclusões foram:

- 1) Durante o jejum, os receptores de hormônio de crescimento estavam diminuídos e a ação deste hormônio estava prejudicada;
- 2) na "restrição protéica", os receptores do hormônio de crescimento não estavam diminuídos, porém, havia uma resistência pós-receptor à ação deste hormônio, diminuindo a síntese de somatomedina e do m-RNA a nível celular;
- 3) a restrição alimentar também diminuiu a síntese de IGF-I e de IGF-BP-3, principal proteína transportadora de somatomedina C e, conseqüentemente, diminuiu a concentração plasmática deste hormônio e,
- 4) a "restrição protéica" causou resistência em alguns tecidos aos efeitos anabólicos da somatomedina C.

Uma variedade de métodos têm sido propostos (GIBSON, 1990, YOUNG e cols., 1990) para avaliar a resposta de pacientes desnutridos submetidos à recuperação nutricional. Estes métodos incluem medidas antropométricas, balanço nitrogenado e parâmetros plasmáticos.

Estudos têm assinalados que a concentração de somatomedina C representa um parâmetro bastante sensível na detecção da deficiência protéico-calórica em ratos (UNTERMAN e cols., 1985), pacientes hospitalizados (CLEMMONS e cols., 1985, DONAHUE e PHILLIPS, 1989, JACOB e cols., 1990, CAUFRIEZ e cols., 1991) e crianças (LOPEZ-JARAMILLO e cols., 1992) e que, seus valores se correlacionam significativamente com os obtidos em determinações de balanço nitrogenado. Assim, por exemplo, estes valores de somatomedina C aumentam rapidamente com a recuperação em humanos desnutridos. Este aumento é maior em relação aos observados com outros parâmetros

bioquímicos usados correntemente por outros autores (Ex: albumina, transferrina e proteínas transportadores de retinol), (GIBSON, 1990).

Recentemente, CLEMMONS e UNDERWOOD (1994) relataram uma série de resultados, apresentados por vários autores sobre o uso da somatomedina C junto com o hormônio de crescimento, em várias doenças em estudos "in vivo", em humanos. Os resultados iniciais apresentados referem-se a estados catabólicos, hiperglicemia, nanismo nutricional por insensibilidade à ação do hormônio de crescimento e doenças renais. Se dúvida, alguns resultados são bastante promissores e ainda estão em fase de experimentação, não sendo portanto, conclusivos. Certamente, num futuro próximo, com as novas pesquisas se abre a possibilidade do uso da somatomedina C no tratamento clínico destas doenças.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais de Experiência

Foram utilizados ratos albinos com peso médio de 90-95 g. no experimento de restrição energética e ratos recém desmamados no experimento com diferentes teores de proteínas. Os mesmos foram alojados em gaiolas individuais de aço inoxidável no biotério, sob temperatura constante de 23-25°C e com ciclo de 12 horas luz - 12 horas escuro. Os animais foram pesados e alimentados diariamente entre 8 e 10 horas e a água foi fornecida "ad libitum".

2.2 Dietas Experimentais

Nos dois experimentos realizados utilizaram-se 6 dietas experimentais com teores de caseína de 5%, 12%, 16%, 24%, 26% e 48% respectivamente. Na Tabela I são apresentados só algumas destas dietas. As dietas foram elaboradas de acordo com as normas do Committee on Laboratory Animal Diets com teores calóricos de cerca de 386 kcal/100 g.

2.3 Procedimento Experimental

Foram realizados 2 experimentos neste trabalho; no primeiro, os ratos foram submetidos a graus variáveis de restrição energética e no segundo, à diferentes teores de caseína da dieta.

2.3.1 Primeiro Experimento: Restrição Calórica

O experimento consistiu de 5 grupos experimentais com 8 ratos em cada grupo pesando entre 90-95 g., alimentados "ad libitum" (Grupos 1 e 2) ou mantidos em restrição calórica, sendo sacrificados em diferentes dias.

O grupo 1 foi sacrificado no dia 0 (zero), início do experimento e constituiu, o grupo controle neste dia. Os

quatro grupos restantes (grupos 2, 3, 4 e 5) foram sacrificados no dia 8, fim do experimento.

O grupo 2 foi alimentado com dieta de caseína 12%, constituindo o grupo controle no dia 8.

Os grupos 3, 4 e 5 sofreram restrição calórica de 25, 50 e 75%, respectivamente, em relação ao grupo 2 (controle, alimentado "ad libitum") e o teor protéico da dieta consumida em cada grupo foi mantido a 12%. Assim, por exemplo, no grupo onde a restrição alimentar foi de 50% do grupo controle, duplicou-se o teor de caseína da dieta (24%) mantendo-se constante a percentagem de proteína consumida em cada grupo em restrição calórica.

Os animais dos grupos 2 ("ad libitum"), 3 (25% de restrição), 4 (50% de restrição) e 5 (75% de restrição) ingeriram 16, 12, 8 e 4 g. de dieta por dia com teores protéicos de 12, 16, 24 e 48%, respectivamente.

Todos os animais foram injetados por via intraperitoneal com solução de 0,4 uCi de ^{35}S -sulfato de sódio por grama de peso corporal, necessário para a determinação da atividade da somatomedina C por bioensaio, 1 hora antes do sacrifício dos animais.

2.3.2 Segundo Experimento: Efeito da Deficiência e Suplementação Protéica em Ratos em Crescimento

O experimento consistiu de 3 grupos experimentais com 8 ratos recém desmamados em cada grupo com peso médio de 40-45 g., alimentados "ad libitum" com dietas de caseína 5, 12 e 26%, respectivamente, por um período de 3 semanas. O grupo 2, alimentado com caseína 12% foi considerado o grupo controle.

A semelhança com o primeiro experimento, em restrição energética, se deu pelo fato de que todos os animais foram injetados com solução de 0,4 uCi de ^{35}S -sulfato

de sódio por grama de peso corporal, para a determinação da atividade da somatomedina C, por bioensaio, 1 hora antes do sacrifício.

2.4 Coleta do Material

Todos os animais foram sacrificados entre 8 e 11 horas. O sangue foi coletado após a decapitação e o plasma foi conservado a -20°C para posterior determinação bioquímica. O músculo gastrocnêmio e a tibia de ambas as pernas foram dissecados, pesados e guardados em nitrogênio líquido para posterior determinação bioquímica.

2.5 Métodos Analíticos

2.5.1 Dosagem de Proteínas nos Tecidos

Foram realizadas determinações da proteína no músculo e na cartilagem pelo método de Folin, de acordo com LOWRY e cols. (1951) utilizando-se como padrão, albumina bovina.

2.5.2 Determinação do Ácido Ribonucléico nos Tecidos

A dosagem do ácido ribonucléico em homogeneizado de músculo e cartilagem foi realizada pelo método preconizado por MUNRO e FLECK (1966). A concentração do RNA foi calculada usando a relação de um grau de extinção a 260 nm que corresponde a 32 ug de ácido ribonucléico por mililitro de solução analisada.

2.5.3 Comprimento da Tibia

O crescimento da tibia foi determinado por paquímetro Norma e o resultado expressado em milímetro.

2.5.4 Determinação no Plasma

A concentração de insulina plasmática foi determinada por radioimunoensaio, segundo método descrito por HERBERT e cols. (1965) e a concentração da somatomedina C plasmática, determinada por radioimunoensaio, segundo método de DAUGHADAY e cols. (1982).

2.5.5 Determinação da Concentração e Atividade da Somatomedina C nos Tecidos

A concentração da somatomedina C no músculo e na cartilagem foi determinada após extração com solução de etanol e ácido clorídrico e posteriormente, medida por radioimunoensaio (DAUGHADAY e cols., 1982).

A atividade da somatomedina C ou síntese de proteoglicano foi determinada pelo método descrito por SPENCER e TAYLOR (1978). O método consiste em determinar a incorporação de sulfato radioativo nas células do músculo gastrocnêmio e na cartilagem da epífise da tibia. Esta incorporação é estimulada pela somatomedina C.

2.5.6 Determinação de Síntese Protéica

A síntese protéica no músculo e osso foi determinada pela técnica descrita por GARLICK e cols. (1980). Os animais foram injetados intraperitonealmente com L-[4 ³H] fenilalanina e sacrificados 15 minutos depois por decapitação.

2.5.7 Análise Estatística

Os valores dos diversos parâmetros estudados foram submetidos à análise de variância e posteriormente pelo teste de DUNCAN. O nível de rejeição da hipótese de nulidade adotada foi de 5% (SNEDECOR e COCHRAN, 1974).

3 RESULTADOS

3.1 Peso Corporal, Peso do Músculo Gastrocnêmio e Consumo de Ração

Nas Tabelas II e XII são apresentados, peso médio corporal e peso do músculo gastrocnêmio obtidos dos animais utilizados nos dois experimentos.

Analisando os resultados das Tabelas acima mencionadas pode-se verificar que o maior peso corporal foi obtido dos animais dos grupos alimentados "ad libitum" (grupo 2), no experimento 1 e dos ratos dos grupos normo e hiperprotéico (grupos 2 e 3), no experimento 2. Os menores valores foram observados no grupo 5 do experimento 1, em que os animais foram submetidos a uma restrição alimentar correspondente a 75% da ingestão do grupo controle. No segundo experimento, os ratos alimentados com caseína 5%, apresentaram o menor peso corporal. Não houve diferenças significativas no peso corporal dos ratos dos grupos 2 e 3 quando comparados entre si.

Com relação ao peso do músculo gastrocnêmio, os resultados foram semelhantes aos observados no peso corporal. No experimento 1, o menor valor observado nos grupos em restrição (grupos 3, 4 e 5) foi o do grupo 5, que ingeriu 25% do alimento em relação ao grupo "ad libitum" (grupo 2) e no experimento 2, o menor valor foi o do grupo 1, caseína 5%.

Na Tabela XI são apresentados o consumo de ração total, proteína e ingestão diária pelos ratos do segundo experimento. Observou-se diferenças estatísticas significativas no consumo total e consumo diário, entre o grupo 1 e os grupos 2 e 3 respectivamente. Em relação ao consumo protéico diário, todos os grupos apresentaram resultados estatisticamente significativos quando comparados entre si.

3.2 Crescimento da Tibia

Os resultados do estudo do comprimento total da tibia nos experimentos 1 e 2 são dados nas Tabelas III e XIII, respectivamente.

Analisando a tabela III verifica-se que os resultados do comprimento total da tibia e a variação do comprimento, no oitavo dia do experimento, foram diretamente proporcionais entre si. O maior valor obtido foi do grupo 2, controle, e o menor, do grupo 5, com restrição calórica de 75% em relação ao grupo controle. Nos dois parâmetros não observou-se diferenças significativas quando comparados os grupos 3 e 4 entre si.

No segundo experimento (Tabela XIII) os menores valores do peso da cartilagem e do comprimento total da tibia foram observados nos grupo 1, alimentados com caseína 5%.

3.3 Insulina e Somatomedina C Plasmática

O resultado do estudo das concentrações de insulina e somatomedina C em plasma nos dois experimento é apresentado nas Tabelas IV e XIV. Analisando-se os dados pode ser verificado que, quanto a insulina, no experimento 1, houve uma relação direta entre o consumo da ração e a concentração plasmática obtida. O grupo 5 apresentou um valor correspondente a 12% em relação ao grupo 2, controle. Quanto a somatomedina C, os resultados apresentaram a mesma tendência da insulina, observando-se o menor valor no grupo 5, com restrição calórica de 75% em relação ao controle. Neste parâmetro não foram observadas diferenças significativas entre os grupos 3 e 4, quando comparados entre si.

No experimento 2 os menores valores encontrados de insulina e somatomedina C foram do grupo 1, caseína 5%. Não houve diferenças significativas entre os grupos 2 e 3 quanto a estes dois parâmetros.

3.4 Parâmetros Analisados no Músculo Gastrocnêmio

O resultado do estudo dos parâmetros analisados no músculo gastrocnêmio nos dois experimentos é apresentado nas Tabelas V, VI, VII, XV, XVI, XVII. Nas Tabelas V e XV são apresentados os valores obtidos para somatomedina C e síntese de proteoglicano. Os menores valores de somatomedina C e síntese de proteoglicano foram obtidos nos grupos 4 e 5, no primeiro experimento e no grupo 1, no segundo experimento. Ao comparar somatomedina C e síntese de proteoglicano entre os grupos do experimento em restrição calórica, verificou-se que não houve diferenças significativas entre os grupos 2 e 3. Referente só a concentração de somatomedina C, os grupos 5 e 1, do primeiro e segundo experimento, respectivamente, apresentaram valores equivalentes a 60% daqueles obtidos nos grupos controles de seus respectivos experimentos.

Nas Tabelas VI e XVI são dados os resultados do estudo das concentrações de proteína e RNA no músculo gastrocnêmio nos dois experimentos. Na Tabela VI podemos verificar que o menor valor para RNA foi obtido do grupo 5. Quanto a proteína, não foram observadas diferenças significativas quando comparados todos os grupos entre si. No segundo experimento (Tabela XVI) verificou-se que para RNA, o grupo 1 apresentou o menor valor e não observou-se diferenças significativas quando comparados os grupos 2 e 3 entre si.

Nas Tabelas VII e XVII são apresentados resultados da síntese protéica nos experimentos 1 e 2, respectivamente. Analisando a Tabela VII pode ser constatado que houve uma relação direta entre o grau de restrição calórica e os valores encontrados para síntese protéica. Nos três grupos com restrição (grupos 3, 4 e 5) houveram diferenças significativas quando comparados entre si. O valor obtido no grupo 5 correspondeu a 27% do valor obtido no grupo controle (grupo 2). No experimento 2, o menor valor observado para este parâmetro correspondeu ao grupo 1, caseína 5%. Quando os grupos 2 e 3 foram comparados entre si, não se encontrou diferenças significativas.

3.5 Parâmetros Analisados na Cartilagem da Epífise da Tibia

O resultado dos estudos dos diferentes parâmetros analisados na cartilagem nos dois experimentos é dado nas Tabelas VIII, IX, X, XVIII, XIX e XX. Analisando os resultados para somatomedina C e síntese de proteoglicano (Tabela VIII) observaram-se diferenças significativas nas comparações entre os grupos 3-4, 3-5, 4-5, 2-4 e 2-5, sendo que os grupos 4 e 5 apresentaram os menores valores. No experimento 2 (Tabela XVIII), o grupo 1 apresentou o menor valor e nos grupos 2 e 3 não observou-se diferenças significativas nos dois parâmetros analisados quando comparados entre si.

O resultado do estudo da concentração de proteína e RNA da cartilagem da epífise da tibia dos ratos, nos dois experimentos, é dado nas Tabelas IX e XIX, respectivamente.

Observando os dados da proteína no experimento 1 verifica-se que não houve diferenças significativas entre todos os grupos, quando comparados entre si. Em relação ao RNA, ao se comparar entre si os grupos com restrição calórica, ver-se-á que ocorreu diferenças significativas nos grupos 2-3, 2-4, 2-5, 3-5 e 4-5. O menor valor observado foi do grupo 5, com restrição de 75% em relação ao grupo 2, controle. No experimento 2, houve diferenças significativas somente no RNA do grupo 1, quando comparado com os grupos 2 e 3. Quanto aos valores de proteína, nos grupos 1, 2 e 3, não se observaram diferenças significativas quando comparados entre si.

O resultado dos estudos da síntese protéica da cartilagem da epífise da tibia dos ratos nos dois experimentos é apresentado nas Tabelas X e XX.

Analisando a Tabela X verifica-se que não foram observadas diferenças significativas em todos os grupos do experimento 1 quando comparados entre si, com exceção do grupo 5, que apresentou o menor valor e correspondeu a 30% dos valores dos outros grupos analisados. Com relação ao

experimento 2 (Tabela XX) o grupo 1 apresentou um valor significativamente menor quando comparado com os outros dois grupos. Os grupos 2 e 3 não apresentaram diferenças significativas quando comparados entre si.

TABELA I - COMPOSIÇÃO DE ALGUMAS DIETAS EXPERIMENTAIS ¹

INGREDIENTES	CASEÍNA 5%	CASEÍNA 12%	CASEÍNA 48%
	g/Kg	g/Kg	g/Kg
Caseína ²	59	141	564
Sacarose	100	100	100
Fibra	50	50	50
Óleo vegetal	50	50	50
Mistura minerais	35	35	35
Mistura vitaminas	10	10	10
dl metionina	0,75	1,8	7,2
Bitartarato de colina	2	2	2
Amido	693,25	610,2	181,8

1. Todas as dietas contém 386 Kcal/100g
2. Caseína contendo 85% de proteína

TABELA II - PESO CORPORAL MÉDIO E PESO DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA ¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	PESO MÉDIO ²	
		CORPORAL(PC) (g)	GASTROCNÊMIO (mg)
1. 100% Energia	0	145 ± 8 ^{a3}	637 ± 44 ^a
2. 100% Energia	8	205 ± 15 ^b	903 ± 70 ^b
3. 75% Energia	8	152 ± 9 ^a	757 ± 89 ^c
4. 50% Energia	8	139 ± 8 ^a	714 ± 38 ^c
5. 25% Energia	8	104 ± 7 ^c	538 ± 68 ^d

1. 8 ratos por grupo
2. Média ± desvio padrão
3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA III - COMPRIMENTO TOTAL DA TÍBIA E VARIAÇÃO DO COMPRIMENTO TOTAL DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	TÍBIA ²	
		Comprimento total (mm)	Δ cm / 8dias
1. 100% Energia	0	30,63 \pm 0,65 ^{a3}	----
2. 100% Energia	8	33,87 \pm 0,47 ^b	3,55 \pm 0,18 ^b
3. 75% Energia	8	33,14 \pm 0,28 ^c	2,51 \pm 0,27 ^c
4. 50% Energia	8	32,98 \pm 0,23 ^c	2,35 \pm 0,21 ^c
5. 25% Energia	8	32,36 \pm 0,27 ^d	1,73 \pm 0,18 ^d

1. 8 ratos por grupo

2. Média \pm desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA IV - INSULINA E SOMATOMEDINA C PLASMÁTICA DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	INSULINA ² (μ U/ml)	SOMATOMEDINA (ng/ml)
1. 100% Energia	0	21,93 \pm 2,15 ^{3a}	311 \pm 36 ^a
2. 100% Energia	8	55,29 \pm 13,11 ^b	412 \pm 58 ^b
3. 75% Energia	8	35,35 \pm 7,24 ^c	257 \pm 52 ^c
4. 50% Energia	8	20,69 \pm 5,78 ^a	248 \pm 45 ^c
5. 25% Energia	8	6,94 \pm 1,37 ^d	107 \pm 47 ^d

1. 8 ratos por grupo

2. Média \pm desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA V - SOMATOMEDINA "C" E SÍNTESE DE PROTEOGLICANO NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	SOMATOMEDINA C (ng/g)	SÍNTESE DE PROTEOGLICANO ² (dmp/100mg)
1. 100% Energia	0	12,64 ± 3,83 ^{a3}	1414 ± 145 ^{ab}
2. 100% Energia	8	11,90 ± 1,11 ^a	1294 ± 126 ^{ab}
3. 75% Energia	8	10,25 ± 1,79 ^a	1243 ± 189 ^{ab}
4. 50% Energia	8	8,07 ± 1,43 ^b	852 ± 166 ^b
5. 25% Energia	8	7,11 ± 0,63 ^b	278 ± 43 ^c

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA VI - PROTEÍNA E RNA NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	PROTEÍNA ² (mg/100mg)	RNA (µg/100mg)
1. 100% Energia	0	13,35 ± 0,67 ^{a3}	119 ± 11 ^a
2. 100% Energia	8	13,46 ± 0,80 ^a	124 ± 16 ^a
3. 75% Energia	8	14,02 ± 0,84 ^a	121 ± 5 ^{ab}
4. 50% Energia	8	14,27 ± 0,56 ^a	108 ± 6 ^b
5. 25% Energia	8	13,99 ± 1,48 ^a	76 ± 7 ^c

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA VII - SÍNTESE PROTÉICA NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	SÍNTESE PROTÉICA ² (% dia)
1. 100% Energia	0	16,48 ± 1,77 ^{3a}
2. 100% Energia	8	15,65 ± 1,33 ^a
3. 75% Energia	8	13,34 ± 1,21 ^b
4. 50% Energia	8	10,10 ± 1,67 ^c
5. 25% Energia	8	4,35 ± 1,58 ^d

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA VIII - SOMATOMEDINA "C" E SÍNTESE DE PROTEOGLICANO EM CARTILAGEM DA EPÍFISE DA TÍBIA DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	SOMATOMEDINA C ² (ng/g)	SÍNTESE DE PROTEOGLICANO (dpm/mg)
1. 100% Energia	0	60,9 ± 3,4 ^{3a}	204 ± 43 ^a
2. 100% Energia	8	63,0 ± 5,5 ^a	222 ± 33 ^a
3. 75% Energia	8	59,5 ± 5,6 ^a	221 ± 25 ^a
4. 50% Energia	8	51,3 ± 4,6 ^b	174 ± 34 ^b
5. 25% Energia	8	44,6 ± 4,4 ^c	43 ± 16 ^c

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA IX - PROTEÍNA E RNA DA CARTILAGEM DA EPÍFISE DA TÍBIA DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	PROTEÍNA ² (mg/100mg)	RNA (µg/100mg)
1. 100% Energia	0	7,37 ± 0,99 ^{a3}	461 ± 23 ^a
2. 100% Energia	8	7,66 ± 0,59 ^a	508 ± 52 ^a
3. 75% Energia	8	7,70 ± 0,48 ^a	422 ± 41 ^b
4. 50% Energia	8	7,45 ± 0,30 ^a	408 ± 40 ^b
5. 25% Energia	8	7,91 ± 0,66 ^a	308 ± 45 ^c

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA X - SÍNTESE PROTÉICA DA CARTILAGEM DA EPÍFISE DA TÍBIA DOS RATOS COM RESTRIÇÃO CALÓRICA¹

GRUPOS	SACRIFÍCIO (dias)	SÍNTESE PROTÉICA ² (% dia)
1. 100% Energia	0	79,42 ± 6,19 ^{a3}
2. 100% Energia	8	71,31 ± 16,87 ^a
3. 75% Energia	8	74,21 ± 11,15 ^a
4. 50% Energia	8	74,13 ± 15,27 ^a
5. 25% Energia	8	21,43 ± 5,99 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XI - CONSUMO DE RAÇÃO TOTAL, PROTEÍNA E INGESTÃO ALIMENTAR DIÁRIA DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO ¹

GRUPOS	PESO MÉDIO ²		
	CORPORAL INICIAL (g)	CORPORAL (PC) FINAL (g)	GASTROCNÊMIO (mg)
1. Caseína 5%	49 ± 1 ^{a3}	103 ± 11 ^a	434 ± 47 ^a
2. Caseína 12%	48 ± 2 ^a	182 ± 20 ^b	843 ± 112 ^b
3. Caseína 26%	49 ± 2 ^a	185 ± 11 ^b	832 ± 38 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XII - CONSUMO DE RAÇÃO TOTAL, PROTEÍNA E INGESTÃO ALIMENTAR DIÁRIA DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO ¹

GRUPOS	PESO MÉDIO ²		
	CORPORAL INICIAL (g)	CORPORAL (PC) FINAL (g)	GASTROCNÊMIO (mg)
1. Caseína 5%	284 ± 25 ^{3a}	12,93 ± 1,11 ^a	0,65 ± 0,06 ^a
2. Caseína 12%	356 ± 29 ^b	16,18 ± 1,34 ^b	1,94 ± 0,16 ^b
3. Caseína 26%	331 ± 18 ^b	15,07 ± 0,81 ^b	3,92 ± 0,21 ^c

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XIII - PESO MÉDIO DA CARTILAGEM DA EPÍFISE DA TÍBIA E COMPRIMENTO TOTAL DA TÍBIA DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO ¹

GRUPOS	PESO CARTILAGEM ²	COMPRIMENTO TOTAL
	(mg)	(mm)
1. Caseína 5%	63 ± 4 ^{a3}	29,74 ± 0,47 ^a
2. Caseína 12%	91 ± 6 ^b	33,19 ± 0,67 ^b
3. Caseína 26%	85 ± 9 ^b	33,78 ± 0,61 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XIV - INSULINA E SOMATOMEDINA "C" PLASMÁTICA DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO ¹

GRUPOS	INSULINA ²	SOMATOMEDINA C
	(μ U/ml)	(ng/ml)
1. Caseína 5%	43,78 ± 5,54 ^{a3}	26,7 ± 2,6 ^a
2. Caseína 12%	59,68 ± 16,14 ^b	573,3 ± 66,7 ^b
3. Caseína 26%	59,94 ± 11,60 ^b	627,2 ± 88,7 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XV - SOMATOMEDINA "C" E SÍNTESE DE PROTEOGLICANO NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO

GRUPOS	SOMATOMEDINA C	SÍNTESE DE PROTEOGLICANO ²
	(ng/g)	(dpm/mg)
1. Caseína 5%	6,42 ± 1,20 ^{a3}	818 ± 85 ^a
2. Caseína 12%	11,01 ± 1,02 ^b	1073 ± 62 ^b
3. Caseína 26%	12,51 ± 0,93 ^b	968 ± 81 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XVI - PROTEÍNA E RNA NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO¹

GRUPOS	PROTEÍNA ²	RNA
	(mg/100mg)	(µg/100mg)
1. Caseína 5%	11,21 ± 2,16 ^{a3}	92,50 ± 12,20 ^a
2. Caseína 12%	12,90 ± 1,41 ^a	132,42 ± 9,10 ^b
3. Caseína 26%	12,89 ± 1,08 ^a	123,45 ± 6,10 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XVII - SÍNTESE PROTÉICA NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO¹

GRUPOS	SÍNTESE PROTÉICA ² (% dia)
1. Caseína 5%	6,80 ± 0,80 ^{a3}
2. Caseína 12%	12,80 ± 0,82 ^b
3. Caseína 26%	11,90 ± 1,10 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XVIII - SOMATOMEDINA "C" E SÍNTESE DE PROTEOGLICANO EM CARTILAGEM DA EPÍFISE DA TÍBIA DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO¹

GRUPOS	SOMATOMEDINA C (ng/g)	SÍNTESE DE PROTEOGLICANO ² (dpm/mg)
1. Caseína 5%	41,83 ± 5,86 ^{a3}	114 ± 21 ^a
2. Caseína 12%	39,17 ± 1,72 ^a	265 ± 66 ^b
3. Caseína 26%	40,61 ± 4,35 ^a	270 ± 47 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XIX - PROTEÍNA E RNA DA CARTILAGEM DA EPÍFISE DA TÍBIA DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO¹

GRUPOS	PROTEÍNA² (mg/100mg)	RNA (µg/100mg)
1. Caseína 5%	7,70 ± 0,69 ^{a3}	209 ± 23 ^a
2. Caseína 12%	8,64 ± 0,94 ^a	252 ± 17 ^b
3. Caseína 26%	8,84 ± 0,61 ^a	248 ± 15 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA XX - SÍNTESE PROTÉICA DA EPÍFISE DA TÍBIA DOS RATOS NO SEGUNDO EXPERIMENTO¹

GRUPOS	SÍNTESE PROTÉICA² (% dia)
1. Caseína 5%	55,30 ± 6,50 ^{a3}
2. Caseína 12%	80,20 ± 8,12 ^b
3. Caseína 26%	76,90 ± 8,20 ^b

1. 8 ratos por grupo

2. Média ± desvio padrão

3. Valores em cada coluna com diferentes subscrito são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Este trabalho foi composto de dois experimentos; no primeiro, determinou-se os efeitos dos diferentes níveis de restrição energética sobre o desenvolvimento do músculo e do osso de ratos em crescimento, utilizando-se uma quantidade fixa de proteína na dieta que correspondeu a caseína 12%. No segundo experimento, os animais foram submetidos à dieta hipoprotéica (caseína 5%), hiperprotéica (26%) e dieta controle de caseína 12%, com o mesmo teor do primeiro experimento.

Nos dois experimentos determinou-se a influência da somatomedina C plasmática e tecidual e da insulina plasmática nesse processo. O crescimento dos tecidos muscular e ósseo foram avaliados pelo aumento da massa protéica e de proteoglicano.

No primeiro experimento, a ingestão de proteína pelos animais foi mantida constante e o crescimento do músculo e do osso, foi estudado em condições de restrição energética de 75%, 50% e 25% da ingestão "ad libitum" do grupo controle. No segundo experimento a alimentação dos animais foi "ad libitum".

Uma das características mais importante da deficiência energética e dietas hipoprotéicas em ratos na fase de crescimento intenso é o retardo desse crescimento verificado pela redução acentuada do peso corporal. Este menor ritmo de crescimento foi observado a partir do segundo dia do experimento, em todos os animais submetidos à restrição energética de 50% e 75%, no experimento 1 e no grupo de caseína 5% do experimento 2. As observações vão de encontro com a literatura onde, outros autores registraram resultados semelhantes, em ratos e em humanos, submetidos à restrição calórica e dietas hipoprotéicas nas fases de crescimento (ANTHONY e EDOZIEN, 1975, TIRAPEGUI e DE ANGELIS, 1985a, TIRAPEGUI e DE ANGELIS, 1985b, SOLIMAN e cols., 1986).

Conforme verificado por alguns autores (COMMITTEE Report, 1979, REEVES e cols., 1993) existem vários fatores que condicionam o crescimento e o desenvolvimento do animal, entre eles, que o rato precisa receber quantidade adequada de dieta balanceada contendo 17% de proteína de alto valor biológico. Além disso, a relação proteína/calorias totais da dieta desempenha papel importante no aproveitamento da dieta (WEEKES, 1986).

A deficiência protéica da dieta é usualmente acompanhada por reduzida ingestão de alimento. Confirmando esta constatação, no segundo experimento, os ratos com dieta de caseína 5% apresentaram diminuição de apetite a partir da primeira semana, atingindo 80% do valor ingerido pelo grupo 2 (controle) ao final do experimento. Em relação ao consumo protéico diário, os valores corresponderam a 33% do ingerido pelo grupo 2 (controle) e 17% do valor do grupo 3, alimentado com caseína 26%.

A diminuição do apetite no grupo 1, caseína 5% (segundo experimento) seria responsável por uma redução no fornecimento das principais fontes calóricas do organismo como, lípides e glicídios, além de proteínas. Esta situação poderia representar um mecanismo de defesa, do qual se valeria o organismo animal, com o objetivo de atenuar os efeitos da deficiência protéica. As evidências experimentais indicam alteração no padrão de aminoácidos em alguns compartimentos do organismo, por interferência nas vias metabólicas do metabolismo de aminoácidos (YOUNG e MARCHINI, 1990). O animal mantém sua homeostase ingerindo menor quantidade de alimento, o que causa, conseqüentemente, um retardo no seu crescimento (DE ANGELIS e cols., 1978).

Em relação ao grupo 3, alimentado com dieta hiperprotéica, caseína 26% (segundo experimento) não se observou aumento do peso corporal devido a maior quantidade de proteína ingerida (3,92 g/dia) em comparação a 1,94 g/dia do grupo 2, controle. O aumento acentuado de proteína na dieta não foi traduzido como um aumento de peso corporal

maior dos animais desse grupo, em comparação com o grupo controle. Resultados semelhantes obtiveram outros autores usando teores de 25% e 50% de proteína na dieta, em ratos em crescimento (EDOZIEN e SWITZER, 1978). Possivelmente, este excesso de proteína foi utilizado para fins energético e não para o crescimento.

A análise dos resultados referente ao músculo gastrocnêmio (experimento 1), evidenciou uma relação direta entre o peso do músculo e o grau de restrição energética. Já no segundo experimento, o grupo 1, caseína 5%, apresentou valores 50% inferiores aos grupos 2 e 3. Comparando-se os resultados do peso do músculo em relação ao peso corporal, do primeiro experimento, observa-se que apesar da restrição energética a que foram submetidos os animais, preservou-se o músculo em maior grau que o peso corporal. Esses dados sugerem que nos grupos com restrição moderada de 25% e 50% (grupos 3 e 4) ocorreu um mecanismo adaptativo onde, a disponibilidade restrita de nutrientes foi encaminhada ao músculo, em detrimento do crescimento corporal. Esta constatação é reforçada pela análise da relação músculo/peso corporal que aumenta nos grupos com restrição, quando comparados com o grupo controle. Segundo alguns autores (TIMSON, 1982, TIMSON e DUDENHOEFFER, 1985) a relação peso músculo/peso corporal é um indicador sensível no estudo do crescimento do músculo, em relação ao crescimento corporal, em situações de restrição protéico-calórica. No segundo experimento, este aumento da relação peso músculo/peso corporal não foi observado no grupo 1, caseína 5%, quando comparado com os grupos 2 e 3, demonstrando que a falta de proteína na dieta teve um efeito adverso mais acentuado em nossas condições experimentais. Sem dúvida, fora os fatores nutricionais, já comentados, fatores hormonais são responsáveis por essa diminuição do peso do músculo gastrocnêmio (MILLWARD, 1989).

Quanto a somatomedina C e a insulina plasmática, no experimento 1, verificou-se diferenças acentuadas nos seus valores entre os diferentes grupos mantidos em restrição

energética. O grupo em restrição de 75%, grupo 5, apresentou um valor de somatomedina C correspondente a 25% do grupo controle (grupo 2), observando-se uma elevação destes valores a medida que a ingestão energética aumentava. No experimento 2, o grupo 1 apresentou um valor de somatomedina C correspondente a 5% do valor obtido no grupo 2, controle.

Este estudo confirma resultados de outros autores (PREWITT e cols., 1982, SCHALCH e CREE, 1985) que observaram uma correlação altamente significativa entre a somatomedina C, peso corporal e comprimento da tibia. YAHYA e cols. (1988) verificaram também, uma correlação altamente positiva entre somatomedina C e outras variáveis (proteína, energia e insulina plasmática) em ratos previamente alimentados com dieta de caseína 0,5%, durante 3 semanas e, realimentados com dietas de caseína de 3%, 6%, 9%, 12% e 20%. Segundo estes autores, a proteína da dieta apresentou a maior correlação com a somatomedina C ($p < 0,001$) e a variável energia, também, mostrou influência significativa ($p < 0,01$).

Neste estudo observou-se correlação positiva entre os valores da somatomedina C e insulina independente de qualquer influência da proteína da dieta. A insulina é de fundamental importância na síntese da somatomedina C. Em ratos diabéticos por efeito da estreptozotocina foram encontrados valores de somatomedina C drasticamente reduzidos (PHILLIPS e cols., 1979, PHILLIPS e cols., 1985, GOLDSTEIN e cols., 1987).

Segundo alguns autores, a proteína da dieta seria o principal nutriente na regulação da atividade da somatomedina C plasmática (HINTZ e cols., 1978, GRANT e cols., 1973, PREWITT e cols., 1982, YAHYA e cols., 1987) e a diminuição desta atividade estaria diretamente relacionada com o grau de depleção protéica (YAHYA e cols., 1988). Outros autores observaram uma redução na atividade da somatomedina C plasmática em crianças desnutridas, embora, os níveis plasmáticos do hormônio de crescimento estivessem aumentados (PIMSTONE e cols., 1968, HINTZ e cols., 1978, PHILLIPS e

VASSILOPOULOU-SELLIN, 1979, SOLIMAN e cols., 1986, LOPES-JARAMILLO e cols., 1992).

Apesar de que, em nosso estudo, não ter sido determinada a concentração plasmática do hormônio de crescimento e se tenha mantido constante o nível da proteína da dieta no primeiro experimento, os resultados demonstraram uma relação direta entre o grau de restrição energética e os níveis de somatomedina C, sugerindo que a restrição energética é também um fator importante a ser considerado.

No segundo experimento houve uma queda acentuada na concentração de somatomedina C nos ratos alimentados com caseína 5%, este valor correspondeu a 5% do valor do grupo controle. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores (PREWITT e cols., 1982, ISLEY e cols., 1983, SCHALCH e CREE, 1985, BOLZE e cols., 1985), em ratos submetidos à restrição protéico-calórica ou por deficiência de algum aminoácido essencial na dieta (CREE e SCHALCH, 1985). Dados similares verificaram-se em ratos submetidos ao jejum por vários dias e posteriormente realimentados (UNDERWOOD e cols., 1986, CLEMONS E COLS., 1985a). Nesses estudos, a somatomedina C atingiu o seu nível normal após alguns dias de realimentação, demonstrando ser um parâmetro bastante sensível em resposta à terapia nutricional.

Em nossos dois experimentos, pode ser verificado que, quanto maior foi a restrição calórica e protéica, menores foram as concentrações plasmáticas de insulina e somatomedina C. Além dos fatores nutricionais, sem dúvida, fatores hormonais são responsáveis pelas variações e concentrações observadas nestes dois hormônios. Sem dúvida os glicocorticóides têm uma participação fundamental neste processo (TIRAPEGUI e cols., 1987, TIRAPEGUI e cols., 1993).

Sabe-se que a ação dos glicocorticóides no metabolismo em geral é antagônica à ação da insulina e somatomedina C, a consequência deste fato é a diminuição do crescimento corporal e a perda da proteína muscular. A

concentração de glicocorticóides no plasma apresenta-se aumentada em ratos em jejum e em ratos com deficiência protéica. Nesses casos, os níveis da insulina plasmática apresentam-se baixos.

TIRAPEGUI e cols. (1987), em trabalho anterior, comprovaram que animais desnutridos ou tratados com corticosterona, apresentaram uma acentuada diminuição das concentrações de insulina e somatomedina C plasmática, como também, acentuada diminuição do comprimento e da variação do comprimento da tibia, sugerindo que houve uma inibição da ação e da síntese da somatomedina C.

Foi demonstrado por CLARK e cols. (1973), que os glicocorticóides diminuem a atividade da enzima glicosiltransferase, necessária na biossíntese do glicosaminoglicano. UNTERMAN e PHILLIPS (1985), concluíram que a administração de glicocorticóides é acompanhada por um aumento dos inibidores da somatomedina C no plasma. Possivelmente, todos estes fatores, influenciam a queda nos níveis da somatomedina C plasmática e conseqüentemente, explicam o menor crescimento corporal observado nos ratos de nosso estudo.

Nos grupos experimentais com restrição energética de 75, 50 e 25% em relação ao grupo controle, os valores observados para a insulina plasmática foram diretamente proporcionais à ingestão calórica. Estes resultados são semelhantes aos comunicados por outros autores, em estudos de deficiência energética em humanos (WHITEHEAD e LUNN, 1979, SMITH e cols., 1981) e em animais de laboratório (MILLWARD e cols., 1986, MILLWARD e cols., 1989).

No segundo experimento, referente a concentração plasmática de insulina, também houve uma diminuição deste parâmetro nos ratos alimentados com caseína 5%, porém, esta queda foi menos acentuada que no experimento de restrição energética. A semelhança dos resultados no primeiro experimento quanto a menor ingestão de alimentos deste grupo, especialmente aminoácidos essenciais e glicose, prejudicaram

a secreção da insulina pelo pâncreas (NEWSHOLME e LEECH, 1988). Quanto à incorporação de sulfato radioativo ou síntese de proteoglicano no músculo gastrocnêmio e cartilagem da epífise da tibia, podemos verificar que as alterações foram mais acentuadas no grupo 5, com restrição de 75%, no primeiro experimento e no grupo 1, caseína 5%, no segundo experimento. Nossos resultados demonstram que a deficiência, tanto de calorias como de proteína, são de fundamental importância na síntese de proteoglicano. Outros autores, também obtiveram resultados semelhantes à nível experimental (TIRAPEGUI e cols., 1993a, TIRAPEGUI e cols., 1993b). No músculo, a síntese de proteoglicano foi diretamente proporcional à concentração plasmática e tecidual de somatomedina C nos dois experimentos. No entanto, no segundo experimento, apesar da menor síntese de proteoglicano na cartilagem do grupo 1, caseína 5%, não foram observadas diferenças significativas na concentração de somatomedina C nesse tecido, quando todos os grupos foram comparados entre si.

Segundo a constatação de vários autores, a concentração de somatomedina C plasmática é sensível às influências hormonais e nutricionais (PREWITT e cols., 1982, YAHYA e cols., 1987, BATES e cols., 1987, THISSEN e cols., 1994), no entanto, nossos resultados quanto a cartilagem, no segundo experimento, sugerem que a concentração de somatomedina C, neste tecido, não reflete as variações observadas na concentração plasmática de somatomedina C. Possivelmente, os resultados obtidos para somatomedina C no tecido ósseo sejam consequência do efeito parácrino ou autócrino, segundo postulado por D'ERCOLE e cols. (1987) e SCHLECHTER e cols. (1986) e não da concentração plasmática deste parâmetro.

Apesar das evidências comprovadas na literatura sobre o papel que a somatomedina C exerce no crescimento do osso, existem controvérsias sobre seu mecanismo de ação. Vários autores têm postulado que a ação da somatomedina C no

osso é um mecanismo mais complexo que a ação de outros peptídeos como a insulina (PHILLIPS e cols., 1990).

Os resultados no experimento 2 da concentração tecidual de somatomedina C nos permite especular também, em relação ao transporte da somatomedina C e sua ação no tecido ósseo. Devemos salientar, que ao contrário da insulina, a somatomedina C é transportada no sangue unida a proteínas transportadoras ou binding proteins (IGFs-BPs). A função específicas dos BPs ainda não está esclarecida, no entanto, já se sabe que uma de suas funções é regular a ação da somatomedina nas células alvos. No presente estudo não determinamos a concentração de proteínas transportadoras de somatomedinas ou IGF-BPs, fato este, que limita nossa discussão. Mas, a literatura nos relata que ratos alimentados com dietas hipoprotéicas, apresentam uma inibição da incorporação de sulfato no proteoglicano e de leucina marcada na proteína devido a ação dos inibidores da somatomedina C no tecido ósseo. Além disso, em condições de deficiência protéica, aumentam a concentração do IGF-BP-1 (SARA e HALL, 1990, RUTANEN e PEKONEN, 1990, THISSEN e cols., 1994). O IGF-BP-1, pode competir com a somatomedina C ao nível dos receptores na superfície das células inibindo a ação deste hormônio e conseqüentemente, o crescimento (PABLO e cols., 1990).

Nos ratos com dieta hipoprotéica de nosso estudo (experimento 2), pode ser especulado que alguns desses mecanismos podem estar ocorrendo e, conseqüentemente, alterando a síntese e a atividade da somatomedina C no tecido ósseo. Este fato pode ser um fator limitante para a ação ou o acesso do hormônio ao espaço extravascular, especialmente ao osso, sugerindo que os valores da somatomedina C observados na cartilagem, são independentes dos valores plasmáticos. A insulina, comprovadamente sensível ao estado nutricional do animal (JEFFERSON, 1980) e estimulante da ação da somatomedina C (YAHYA e cols., 1988), não possui, entretanto, participação efetiva no processo descrito.

Os resultados da síntese protéica no músculo gastrocnêmio foram diretamente proporcionais à quantidade de dieta ingerida, concentrações de insulina, somatomedina C plasmática, somatomedina C muscular e T_3 livre plasmático (estes últimos dados - de T_3 - não foram apresentados). Os grupos submetidos à restrição energética mais severa e o grupo 1, caseína 5%, do segundo experimento, apresentaram os valores mais reduzidos. Esta queda foi correlacionada com os valores da atividade do RNA (dados não apresentados) que representa a síntese protéica por unidade de RNA e que constitui a fase de tradução no mecanismo da síntese protéica.

A reduzida síntese protéica através da menor velocidade de tradução verificada em nosso estudo está de acordo com os trabalhos de vários autores, que estudaram os efeitos da deficiência protéica e energética severa, sobre a síntese protéica no músculo (WATERLOW e cols., 1978, JEPSON e cols., 1988a, MILLWARD e cols., 1989, TAWA e GOLDBERG, 1992, TIRAPEGUI, e BALDI, 1993).

Também foi observado em nosso trabalho, uma relação entre os níveis de insulina, T_3 Livre e síntese protéica, dados que são semelhantes aos encontrados por JEPSON e cols. (1988). Sabe-se que a insulina estimula a fase de tradução da síntese protéica (JEFFERSON, 1980), fato comprovado através de experiências realizadas com ratos diabéticos que apresentavam redução na atividade do RNA. Este quadro se normalizou logo após a administração de insulina (MILLWARD e cols., 1986). Os conteúdos do RNA no músculo também acompanharam as variações da ingestão calórica protéica, da síntese protéica e da atividade do RNA. Pelos trabalhos de MILLWARD (1989) sabemos que a reduzida atividade do RNA no músculo envolve uma reduzida velocidade de iniciação da síntese protéica, acompanhada de desagregação dos polissomos, provocando aumento da suscetibilidade dos ribossomos à degradação.

Com relação ao metabolismo de proteínas no músculo, o aumento da massa muscular é determinado pelo balanço entre a síntese e a degradação da proteína. Trabalhos de vários autores focalizaram os aspectos endocrinológicos e nutricionais da síntese e degradação de proteína no músculo, com especial enfoque ao papel da insulina, corticosterona, hormônios da tiróide e hormônio de crescimento (MORTIMORE e POSO, 1987, JEPSON e cols., 1988a, JEPSON e cols., 1988b, MILLWARD, 1989a, MILLWARD, 1989b, MILLWARD e cols., 1989c, ULLMAN e cols., 1990, YAHYA e cols., 1990, PELL e BATES, 1990, DARDEVET e cols., 1991, TAWA e GOLDBERG, 1992).

Em nosso trabalho de restrição calórica e diferentes teores de proteína na dieta, em ratos em crescimento, não estudamos o "turnover" de proteína, especificamente, a degradação protéica e a relação com os hormônios. No entanto, trabalhos de outros autores nos esclarecem o mecanismo de ação a este respeito.

Assim, por exemplo, MILLWARD e cols. (1986) estudaram a ação da insulina, corticosterona e T₃ livre no metabolismo protéico do músculo em condições de deficiência energética moderada e severa. Com deficiência energética moderada, a queda na concentração de T₃ livre parece dominar a resposta, reduzindo a degradação e também a síntese da proteína muscular. A diminuição da insulina e o aumento moderado da corticosterona, também são responsáveis pela redução da síntese protéica, porém, essas variações parecem não influenciar a degradação protéica. A resposta final nestas condições é interpretada como um mecanismo de adaptação que permite poupar a proteína muscular. O mesmo processo ocorre também em animais submetidos à ingestão de dieta hipoprotéica. Em resposta à deficiência energética severa, a influência de T₃ livre é menor. Observou-se nestas condições, um aumento acentuado da corticosterona e uma diminuição dos níveis de insulina, fatores estes, que são relevantes na resposta observada. Verificou-se uma diminuição acentuada da síntese protéica, paralela a um aumento da sua degradação, provocando perda de proteína no músculo. Embora o

mecanismo de degradação muscular não tenha sido, ainda, completamente elucidado é possível que o alto valor observado na relação corticosterona/insulina, tenha um papel importante neste processo.

TAWA e GOLDBERG (1992) num estudo com ratos em crescimento submetidos a dieta hipoprotéica severa (lactoalbumina 1%), observaram uma diminuição de 30-40% da síntese protéica muscular e dos aminoácidos alanina e glutamina. Os autores salientam que a participação dos hormônios é fundamental para a compreensão dos mecanismos adaptativos num estado de desnutrição.

A maioria da informação científica sobre crescimento, somatomedina e estado nutricional se refere a situações de deficiência energética, protéica ou de algum outro nutriente isolado. Pouca informação existe sobre o excesso de proteína na dieta, excesso de calorias e as respostas endócrinas nesta situação. Em nosso estudo, experimento 2, com exceção da ingestão protéica diária, praticamente não encontramos diferenças significativas em todos os outros parâmetros analisados, quando comparados os grupos caseína 12%, controle e, o grupo suplementado com caseína 26%.

Quando há uma ingestão elevada de proteína, ocorre diminuição do aporte energético fornecido pelos nutrientes (COYER e cols., 1987 e MILLWARD, 1989). A elevação da ingestão protéica diária implica em sobrecarga orgânica, a qual resulta em déficit energético, exigindo um aporte calórico extra. Este aporte protéico elevado promove, também, no organismo, alteração da função renal (BRENER e cols., 1982). Esta alteração deve-se ao fato de que os processos de desaminação aumentam as concentrações de uréia (LEMON e PROCTOR, 1991), o que implica, conseqüentemente, em maior necessidade de diálise renal. É fato conhecido que as proteínas contribuem com 10-15% do valor calórico total, valores acima das recomendações, possivelmente serão usados

com fins energéticos não favorecendo o crescimento corporal ou de órgãos específicos.

Estudos em humanos realizados por FORBES e cols. (1989), relatam que um excesso de alimentação em mulheres de 1200-1600 kcal/dia aumentou a concentração plasmática de somatomedina C em 19%, após 14 dias de tratamento. Estes mesmos autores observaram também, um aumento da massa magra corporal e da testosterona e insulina. Como os 3 hormônios são anabólicos é difícil definir qual foi o responsável pelo aumento da massa magra corporal.

Outros autores comprovaram que indivíduos obesos mantém constante a concentração de somatomedina C durante uma restrição alimentar e este parâmetro aumenta na hiper-alimentação (THISSEN e cols., 1994). No entanto, há controvérsias na literatura frente a este fato. Alguns autores comprovaram aumento da concentração de somatomedina C (COPELAND e cols., 1990) e outros verificaram uma diminuição desta concentração (LOCHE e cols., 1987). Sem dúvida mais estudos são necessários para esclarecer a relação da hiper-alimentação protéica ou calórica e concentração de somatomedina C.

Com relação a cartilagem da epífise da tibia, os resultados dos diversos parâmetros analisados, seguem a tendência geral das outras variáveis estudadas. Com exceção da concentração tecidual de somatomedina C, no segundo experimento, que não apresentou diferenças significativas quando todos os grupos foram comparados entre si, os valores encontrados dos outros parâmetros foram diretamente proporcionais à quantidade de energia e proteína ingerida. Estes resultados demonstram que a restrição severa de energia e proteína exerceram efeitos inibitórios sobre o crescimento ósseo.

YAHYA e cols. (1987), também observaram níveis reduzidos de síntese protéica, atividade do RNA e de conteúdo de RNA na cartilagem da epífise da tibia, em ratos submetidos

a dietas hipoprotéicas por 3 semanas. Segundo estes autores, a análise de correlação parcial das diferentes variáveis estudadas sugere que a somatomedina C óssea regula especificamente os mecanismos de síntese protéica e de proteoglicano da cartilagem. No músculo, entretanto, a síntese protéica seria regulada principalmente pela ação da insulina. MARTINEZ e cols. (1993), encontraram uma relação direta entre a qualidade da proteína da dieta, concentração plasmática de somatomedina C e a síntese protéica na cartilagem.

A restrição energética no primeiro experimento e a protéica no segundo, provocaram alterações hormonais e possivelmente dos moduladores da ação da somatomedina C, neste tecido, que são as IGF-BPs. Estes resultados podem ser interpretados como indicando que a consequência primária da deficiência protéica e calórica no tecido ósseo é a inibição da somatomedina C por indução da síntese de IGF-BP (MOHAN e cols., 1990). Outra hipótese seria o aumento dos glicocorticóides como consequência da diminuição das concentrações plasmáticas de insulina e de somatomedina C.

A presença de inibidores da somatomedina C no soro, seria a causa dos efeitos inibitórios observados em animais em jejum, desnutridos, diabéticos, hipofisectomizados ou tratados com glicocorticóides. VASSILOPOULOU-SELLIN e cols. (1988), observaram uma redução no crescimento da cartilagem, por inibição da incorporação de sulfato no proteoglicano, leucina marcada na proteína e de uridina marcada no RNA. Esta redução se deve aos efeitos dos inibidores da atividade da somatomedina C.

Indubitavelmente, muitos são os fatores que regulam o crescimento corporal e de tecidos específicos como o muscular e o ósseo. Entretanto, existe concenso na literatura científica que o papel da somatomedina C nesse processo é fundamental. Além dos fatores nutricionais e hormonais que controlam a síntese, secreção, concentração e a ação deste hormônio nas células alvos, a literatura nos fornece uma

série de informações sobre compostos que ainda estão sendo isolados e cuja função fisiológica permanece não completamente esclarecida. Esses compostos modulam a ação endócrina, parácrina e autócrina deste hormônio. Sem dúvida novos estudos são necessários para esclarecer os mecanismos responsáveis pela ação da somatomedina C no controle do crescimento corporal, no tratamento de algumas doenças metabólicas relacionadas com o nanismo nutricional e em outras doenças metabólicas onde se está comprovando a participação deste e outros hormônios nos tratamentos clínicos. Também a somatomedina C, constitui um sensível parâmetro do estado nutricional, proporcionando um acompanhamento eficaz da evolução da recuperação nutricional em humanos, pacientes hospitalizados e animais de laboratórios.

5 CONCLUSÕES

Os ratos dos dois experimentos apresentaram alterações bem caracterizadas quando comparados aos do grupo controle:

A) Efeito da restrição energética:

- 1) Menor peso corporal e do músculo gastrocnêmio;
- 2) diminuição da concentração da somatomedina C e insulina plasmática;
- 3) menor comprimento da tibia e variação total do comprimento;
- 4) redução da síntese protéica e de proteoglicano, do conteúdo de RNA e da concentração de somatomedina C no músculo e,
- 5) redução da síntese protéica e de proteoglicano e do conteúdo de RNA na cartilagem da epífise da tibia e da concentração de somatomedina C, neste tecido.

B) Efeito das dietas com graus variáveis de proteína:

- 1) Os grupos com dieta hipoprotéica apresentaram todos os valores dos parâmetros analisados menores, estatisticamente, quando comparados com o grupo controle, com exceção da proteína nos tecidos e da concentração de somatomedina C na cartilagem; comprovando que dietas com teores protéico de 5% são prejudiciais para o crescimento e manutenção do animal;
- 2) Nos grupos suplementados com proteína, com exceção da ingestão protéica diária, todos os parâmetros analisados não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados com o grupo controle,

sugerindo que o excesso de proteína foi utilizado, possivelmente, com fins energéticos e não para o crescimento.

6 RESUMO

No presente trabalho, estudamos o efeito da somatomedina C no crescimento corporal e do tecido muscular e ósseo em ratos submetidos a dietas com graus variáveis de energia, experimento 1 e de proteína, experimento 2. Este quadro foi delineado pelo peso corporal, peso do músculo gastrocnêmio, comprimento da tibia e as concentrações plasmáticas de somatomedina C e insulina. Nos tecidos muscular e ósseo foram determinados a síntese protéica, síntese de proteoglicano, conteúdos de RNA e proteína e concentração de somatomedina C tecidual. No experimento 1, alguns grupos foram submetidos a graus variáveis de restrição energética de 75%, 50%, e 25% da ingestão do grupo controle. No experimento 2, houve um grupo hipoprotéico (caseína 5%) e outro com suplementação protéica (caseína 26%). Nos dois experimentos foi fornecido ao grupo controle, caseína 12%. Os resultados assinalam uma correlação significativa entre a ingestão calórica, níveis de somatomedina C e insulina plasmática, síntese de proteoglicano e protéica no músculo e osso, no experimento 1. A concentração de somatomedina C no osso não refletiu a concentração plasmática observada. No experimento 2, foram confirmados os menores valores em todos os parâmetros analisados no grupo com dieta hipoprotéica, com exceção da proteína nos tecidos e a concentração de somatomedina C na cartilagem. No grupo com suplementação protéica, com exceção da ingestão protéica diária, todos os parâmetros analisados foram iguais ao grupo controle, sugerindo que o excesso de proteína da dieta não foi encaminhado para um crescimento maior, sendo utilizado este excesso, possivelmente com fins energéticos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMQVIST, S. & FALKHEDEN, T. Studies on sulfation factor (SF) activity of human serum: rate of decrease of serum SF after hypophysectomy. *Acta Endocrinol.*, v.37, p.315-321, 1961.

ALMQVIST, S. & RUNE, I. Studies on sulfation factor (SF) activity of human serum: the variation of serum SF with age. *Acta Endocrinol.*, v.36, p.566-568, 1961.

ANTHONY, L.E.; EDOZIEN, J.C. Experimental protein and energy deficiencies in the rat. *J. Nutr.*, v.105, p.631-48, 1975.

ASHWORTH, A., MILLWARD, D. J. Catch-up growth in children. *Nutr.Rev.*, v.44, p.157-163, 1986.

BAXTER, R.C. Insulin-like growth factors (IGF) binding proteins: the role of serum IGFbps in regulating IGF availability. *Acta Paediatr. Scand.*, v.372, p.107-114, 1991.

BAXTER, R. C. & MARTIN, J. L. Binding proteins for the insulin-like growth factors: structure, regulation and functions. *Prog.Growth Fact.Res.*, v.1, p.49-68, 1989.

De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Normas ABNT sobre documentação: NB-66 Referências Bibliográficas. Rio de Janeiro, 1978.

SERIAL SOURCES FOR THE BIOSIS DATA BASE, 1980.

- BOLZE, M.S.; REEVES, R.D.; LINDBECK, F.E.; ELDERS, M.J. Influence of selected amino acid deficiencies on somatomedin, growth and glycosaminoglycan metabolism in weaning rats. *J. Nutr.*, v.115, p.782-7, 1985.
- BOLZE, M. S., REEVES, R. D., LINDBECK, F. E., ELDERS, M. J. Influence of Zn on growth, somatomedin, and glycosaminoglycan metabolism in rats. *Am.J.Physiol.*, v.252, p.E21-E26, 1987.
- BRENNER, B.M., MEYER, T.W., HOSTETTER, T.H. Dietary protein intake and progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular sclerosis in aging, renal ablation and intrinsic renal disease. *New Engl. J. Med.*, v.307, p.652-9, 1982
- CANALIS, E., MCCARTHY, T., CENTRELLA, M. Isolation and characterization of insulin-like growth factor-1 (somatomedin c) from cultures and fetal rat caloric. *Endocrinology*, v.122, p.22-27, 1988.
- CARA, J. F., ROSENFELD, R. L., FURLANETTO, R. W. A longitudinal study of a relationship of plasma somatomedin C concentration to the pubertal growth spurt. *A.J.D.C.*, v.141, p.562-564, 1987.
- CARDOSO, M.A., TIRAPEGUI, J. Serum concentration of Insulin-like growth factor-I and proteoglycan synthesis rates in young rats: a comparative study between the regional diet of São Paulo State and casein diets. *Brazilian J. Med.Biol. Res.*, v.25, p.1009-1013, 1992.
- CAUFRIEZ, A., REDING, P., URBAIN, D., GOLDSTEIN, J., COPINSCHI, G. Insulin-like growth factor-I: a good indicator of functional hepatocellular capacity in alcoholic liver cirrhosis. *J. Endocrinol. Invest.*, v.14, p.317-321, 1991.

CLARK, J.S.; WINGFIELD, B.S.; McNATT, M.L.; ELDERS, M.J.; HUGHES, E.R. Studies on the mechanism of growth inhibition by glucocorticoids. *Clin. Res.*, v.21, p.109-16, 1973.

CLEMMONS, D. R. Structural and functional analysis of insulin-like growth factors. *Br.Med.Bull.*, v.45, p.465-480, 1989.

CLEMMONS, D. R. & UNDERWOOD, L. E. Nutritional regulation of IGF-1 and IGF binding proteins. *Ann.Rev.Nutr.*, v.11, p.393-412, 1991.

CLEMMONS, D.R., UNDERWOOD, L.E. Use of human insulin-like growth factor-I in clinical conditions. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.79, p.4-6, 1994.

CLEMMONS, D. R., SEEK, M. M., UNDERWOOD, L. S. Supplemental essential amino acids augment the somatomedin-C/insulin-like growth factor-I response to refeeding after fasting. *Metabolism*, v.34, p.391-395, 1985a.

CLEMMONS, D. R., UNDERWOOD, L. E., DICKERSON, R. N., BROWN, R. O., HAK, L. J., MACPHEE, R.D., HEIZER, W. D. Use of plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor-I measurements to monitor the response to nutritional repletion in malnourished patients. *Am.J.Clin.Nutr.*, v.41, p.191-198, 1985b.

CLEMMONS, D.R., THRAILKILL, K.M., HANDWERGER, S., BUSBY JR, W.H. Three distinct forms of insulin-like growth factor binding proteins are released by decidual cells in culture. *Endocrinol.*, v.127, p.643-50, 1990.

COMMITTEE on Laboratory Animal Diet. Institute of Laboratory Animal Resources. National Research Council. Controls of diet in laboratory animal experimentation. *Nutr. Abstr.Rev.*, v.49, p.413-9, 1979.

- CONOVER, C.A., BUTLER, P.C., WANG, M., RIZZA, R.A., LEE, P.D.K. Lack of growth hormone effect on insulin-associated suppression of insulin-like growth factor binding protein-1 in humans. *Diabetes*, v.39, p.1251-6, 1990.
- CONOVER, C.A., DIVERTIE, G.D., LEE, P.D.K. Cortisol increases plasma insulin-like growth factor binding protein-1 in humans. *Acta Endocrinol.*, v.128, p.140-3, 1993.
- COPELAND, K.C., COLLETI, R.B., DEVLIN, J.T., MCAULIFFE, T.L. the relationship between Insulin-like growth factor-I, adiposity, and aging. *Metabolism*, v.39, p.584-587, 1990.
- COSSACK, Z. T. Somatomedin C and zinc status in rats as affected by Zn, protein and food intake. *Br.J.Nutr.*, v.56, p.163-169, 1986.
- COUNTS, D.R., GWIRTSMAN, H., CARLSSON, L.M.S., LESEM, M., CUTLER, G.B. The effect of anorexia nervosa and refeeding on growth hormone binding protein, the Insulin-like growth factor (IGFs), and the IGF-binding proteins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.75, p.762-7, 1992.
- COYER, P.A., RIVERS, J.P.W., MILLWARD, D.P. The effect of protein and energy restriction on heat production and growth cost in the young rats. *Br.J.Nutr.*, v.58, p.73-85, 1987.
- CREE, T. C. & SCHALCH, D. S. Protein utilization in growth: Effect of lysine deficiency on serum growth hormone, somatomedins, insulin, total thyroxine (T4) and triiodothyronine, free T4 index, and total corticosterone. *Endocrinology*, v.117, p.667-673, 1985.

- DARDEVET, D., MANIN, M, BALAGE, M, SORNET, C., GRIZARD, J.
Influence of low- and high-protein diets on insulin and
Insulin-like growth factor-1 binding to skeletal muscle
and liver in the growing rat. *Br. J. Nutr.*, v.65, p.47-
60, 1991.
- DAUGHADAY, W.H. Editorial: the possible autocrine/paracrine
and endocrine roles of insulin-like growth factors of
human tumors. *Endocrinol.*, v.127, p.1-4, 1990.
- DAUGHADAY, W. H., HALL, K., RABEN, M. S., SALMON, W. D., VAN
DEN BRANDE, J. L., VAN WYK, j. j. Somatomedin: proposed
designation for sulphation factor. *Nature*, v.253, p.107-
108, 1972.
- DAUGHADAY, W.H.; PARKER, K.A.; BOROWSKY, S.; TRIVEDI, B.;
KAPADIA, M. Measurement of somatomedin-related peptides in
fetal, neonatal, and maternal rat serum by insulin-like
growth factor (IGF) I radioimmunoassay, IGF-II
radioreceptor assay (RRA), and multiplication stimulating
activity (RRA) after acid-ethanol extraction.
Endocrinology, v.110, p.575-81, 1982.
- DAVENPORT, M.L., CLEMMONS, D.R., MILES, M.V., CAMACHO-HUBNER,
C., D'ERCOLE, A.J., UNDERWOOD, L.E. Regulation of serum
insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding
proteins during rat pregnancy. *Endocrinol.*, v.127, n.3,
p.1278-86, 1990.
- DE ANGELIS, R.C., TAKAHASHI, N., AMARAL, L.A., TERRA, I.C.
Imbalanced protein and appetite. *Arq. Gastroenterol.*,
v.15, p.194-8, 1978.
- D'ERCOLE, A. J., STILES, A. D., UNDERWOOD, L. E. Tissue
concentration of somatomedin C: Further evidence for
multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine
mechanisms of action. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v.81,
p.935-939, 1984.

- DE MELLOW, J. S. M. & BAXTER, R. C. Growth hormone dependent insulin-like growth factor binding protein boths inhibits and potentiates IGF-1 stimulated DNA synthesis in skin fibroblast. *Biochem.Biophys.Res.Comun.*, v.156, p.199-204, 1988.
- DIMIATRIS, G., PARRY-BILLINGS, M. DUNGER, D., BEVAN, S., COLQUHOUN, A., TAYLOR, A., CALDER, P., KRAUSE, U., WEGENER, G., NEWSHOLME, E.A. Effects of *in vivo* administration of Insulin-like growth factor-1 on the rate of glucose utilization in the soleus muscle of the rat. *J. Endocrinol.*, v.133, p.37-43, 1992.
- DONAHUE, S. P. & PHILLIPS, L. S. Response of IGF-1 to nutritional support in malnourished hospital patients: a possible indicator of short-term changes in nutritional status. *Am.J.Clin.Nutr.*, v.50, p.962-969, 1989.
- DORUP, I., FLYVBJERG, A., EVERTS, M. E., CLAUSEN, T. Role of insulin-like growth factor-1 and growth hormone in growth inhibition induced by magnesium and zinc deficiencies. *Br.J.Nutr.*, v.66, p.505-521, 1991.
- EDOZIEN, J.C., SWITZER, B.R. Influence of diet on growth in the rat. *J. Nutr.*, v.108, p.282-90, 1978.
- FLIESEN, T., MAITER, D., GERARD, G., UNDERWOOD, L. E., MAES, M., KETELSLERGERS, J. M. Reduction of serum insulin-like growth factor-1 by protein rectriction is age dependent. *Pediatr.Res.*, v.26, p.415-419, 1989.
- FLYVBJERG, A., DORUP, I., EVERTS, M. E., ORSKOV, H. Evidence that potassium deficiency induces growth retardation through reduced circulating levels of growth hormone and insulin-like growth factor-1. *Metabolism*, v.40, p.769-775, 1991.

- FOMAN, S.J., FILER, L.J., ZIEGLER, E.E., BERGMANN, K.E., BERGMANN, R.L. Skim milk in infant feeding. *Acta Paediatr., Scand.*, v.66, p.17-30, 1977.
- FORBES, G.B., BROWN, M.R., WELLE, S.L., UNDERWOOD, L.E. Hormonal response of overfeeding. *Am.J.Clin.Nutr.*, v.49, p.608-611, 1989.
- FROESCH, E. R. & ZAPF, J. Insulin-like growth factors and insulin: comparative aspects. *Diabetologia*, v.28, p.485-493, 1985.
- FROESCH, E.R., BURGI, H., RAMSEIER, E.R., BALLY, P., LABHART, A. Antibody suppressible insulin-like activities in human serum and their physiologic significance: an insulin assay with adipose tissue of increased precision and specificity. *J. Clin. Invest.*, v.42, p.1816-21, 1963.
- GAGLIARD, A. R. T., GOLDSTEIN, S., PHILLIPS, S. Nutrition and somatomedin XXI. Insulin-like growth factor-1 and somatomedin inhibitor in streptozotocin-diabetic rats: Relation to ketogenesis and gluconeogenesis. *Metabolism*, v.39, p.75-80, 1990.
- GARLICK, P.J.; MCNURLAN, M.A.; PREEDY, V.R. A rapid and convenient technique for measuring the rate of protein synthesis in tissues by injection of (³H) phenylalanine. *Biochem. J.*, v.192, p.719-23, 1980.
- GATE, J.J., DARBY, C.J., LOMAX, M.A. SYMONDS, M.E. Effects of hypothyroidism on insulin-like growth factor (IGF-1) status in the postnatal lamb. *Proc.Nutr.Soc.*, v.52, p.276A, 1993.
- GIBSON, R. S. *Principles of Nutritional Assessment.* New York, Oxford University Press, 1990.

- GOLDEN, M.H.N. The consequences of protein deficiency in man and its relationship to the features of kwashiorkor. In: **NUTRITIONAL adaptation in man**. K. Blaxter & J.C. Waterlow, eds. London, John Libbey, 1985. p.169-87.
- GOLDSTEIN, S. & PHILLIPS. Nutrition and somatomedin: nutritionally regulated release of somatomedins and somatomedin inhibitors from perfused livers in rats. **Metabolism**, v.38, p.745-752, 1989.
- GOLDSTEIN, S., UNTERMAN, T. G., PHILLIPS, L. S. Nutrition and somatomedin. XV. Growth plate, growth factor and biologically active somatomedins in rats with streptozotocin-induced diabetes. **Ann.Nutr.Metab.**, v.31, p.367-377, 1987.
- GRANT, D.B.; HAMBLEY, J.; BECKER, D.; PIMSTONE, B.J. Reduced sulfation factor in undernourished children. **Arch. Dis. Child.**, v.48, p.596-600, 1973.
- GULER, H.P., ZAPF, J., SCHMID, C. FROESCH, E.R. Insulin-like growth factors I and II in healthy man. **Acta Endocrinol.**, v.121, p.753-8, 1989.
- HERBERT, V.; LAU, K.S.; GOTTLIER, C.W.; BLEICHER, S.J. Coated charcoal immunoassay of insulin. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.25, p.1375-84, 1965.
- HINTZ, R.L.; SUSKIND, R.; AMATAYAKUL, K.; THANANGKUL, O.; OLSON, R. Plasma somatomedin and growth hormone values in children with protein-calorie malnutrition. **J. Pediatr.**, v.92, p.153-6, 1978.
- HOLLY, J. M. P. & WASS, J. A. H. Insulin-like growth factors: autocrine, paracrine or endocrine? New perspective of the somatomedin hypothesis in the light of recent developments. **J.Endocrinol.**, v.122, p.611-618, 1989.

- IKEDA, T., FUJIYAMA, K., HOSHIMO, T., TAKEUCHI, T., MASHIBA, H., TOMINAGA, M. Possible role of thyroid hormone in decreased somatomedin-C levels in diabetic and starved rats. *Ann.Nutr.Metab.*, p.34, p.8-12, 1990.
- ISLEY, W.L.; UNDERWOOD, L.E.; CLEMMONS, D.R. Dietary components that regulate serum somatomedin C concentrations in humans. *J. Clin. Invest.*, v.71, p.175-82, 1983.
- JACOB, V. L., CAAPENTIER, J. E., SALZANO, S., NAYLOR, V., WILD, G., BROWN, c. b., NAHAS, A. M. IGF-1, a marker of undernutrition in hemodialysis patients. *Am.J.Clin.Nutr.*, p.52, p.39-44, 1990.
- JEFFERSON, L.S. Role of insulin in the regulation of protein synthesis. *Diabetes*, v.29, p.487-96, 1980.
- JEPSON, M. M., BATES, P. C., MILLWARD, D. J. The role of insulin and thyroid hormones in the regulation of muscle protein in the rat. *Br.J.Nutr.*, v.59, p.397-415, 1988a.
- JEPSON, M.M., BATES, P.C., BROADBENT, P., PELL, J.M., MILLWARD, D.J. Relationship between glutamine concentration and protein synthesis in rat skeletal muscle. *Am.J.Physiol.*, v.255, (*Endocrinol.Metab.*, v.18), p.E166-E172, 1988b.
- KUSIN, J.A., KARDJATI, S., RENQVIST, UH. Chronic undernutrition in pregnancy and lactation. *Proc.Nutr.Soc.*, v.52, p.19-28, 1993.
- LEMON, P.W.R., PROCTOR, D.N. Protein intake and athletic performance. *Sport Med.*, v.12, p.313-25, 1991.

- LIU, L., BRINKMAN, A., BLAT, C., HAREL, L. IGF-BP-1, an Insulin-like growth factors binding protein, is a cell growth inhibitor. *Biochem.Biophys. Res. Commun.*, v.174, p.673-9, 1991.
- LOCHE, S., CAPPÀ, M., BORRELLI, P., FAEDDA, A., CRINO, A., CELLA, SG, CORDA, R., MULLER, E.E., PINTOR, C. Reduced growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in children with simple obesity: evidence with somatomedin-C mediated inhibition. *Clin. Endocrinol.*, v.27, p.145-53, 1987.
- LOPEZ-JARAMILLO, P., LOPEZ DE GARCIA, A., PREVOT, C., FELIX, C., SOSA, C., ROMERO, R., GRIJALVA, Y., RAPPAPORT, R. Effect of social class and nutrient intake on height and plasma insulin-like growth factor in Andean equatorian children. *Eur.J.Clin.Nutr.*, v.46, p.137-142, 1992.
- LOWRY, D.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, v.193, p.266-75, 1951.
- McINTOSH, N., SHAW, J.C.L., TAGHIZADEH, A. Accumulation of nitrogen and collagen in the femur of the human fetus and the effect of prematur birth. *Pediatr.Res.*, v.11, p.1023-5, 1977.
- MAOR, G., HOCHBERG, Z., SILBERMANN, M. Insulin-like growth factors acelerates proliferation and differentiation of cartilage progenitor cells in culture of neonatal mandibular condyle. *Acta Endocrinol.*, v.128, p.56-64, 1993.
- MARTIN, J.L., BAXTER, R.C. Production of an insulin-like growth factor (IGF)-inducible IGF-binding protein by human skin fibroblast. *Endocrinol.*, v.127, p.781-8, 1990.

- MARTINEZ, J.A., MARCOS, R., MACARULLA, M.T., LARRALDE, J.
Effect of pea intake on bone protein synthesis and immunoreactive IGF. *Proc.Nutr.Soc.*, v.52, p.139A, 1993.
- MARTORREL, R. , MENDOZA, F., CASTILLO, F. Poverty and stature in children. In: **LINEAR growth retardation in less developed countries**. J. C. Waterlow (Ed.). Nestlé Nutrition Workshop Series, 14, 1988. p. 57-73.
- MILLWARD, D.J., Protein turnover in cardiac and skeletal muscle during a normal growth and hipertrophy. In: **DEGRADATIVE process in heart, and skeletal muscle**. K. Wiildenthal, ed. Amsterdam, Elsevier, 1980. p.161-99.
- MILLWARD, D. J. The endocrine response dietary protein: the anabolic drive on growth. In: **Milk protein in human nutrition**. C. A. Barth e E. Schlimme (Eds.). Steinkopff Verlag Darmstadt, 1989a. p. 49-61.
- MILLWARD, D. J. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. *Aguacultura.*, v.79, p.1-28, 1989b.
- MILLWARD, D. J., BATES, P. C., COYER, P., COX, M. , DALAL, S., JEPSON, M., PELL, J. The effect of dietary energy and protein on growth as studied in animal models. In: **ENERGY and protein needs during infancy**. S.J. Fomom & W.C. Heird (Eds.). London, Academic Press, 1986. p. 127-156.
- MILLWARD, D.J., JEPSON, M.M., OMER, A. Muscle glutamine concentration and protein turnover *in vivo* in malnutrition and in endotoxemia. *Metabolism*, v.38, n.8, p.6-13, 1989.
- MILLWARD, D.P., BOWTELL, J.L., PACY, P., RENNIE, M.J. Physical activity, protein metabolism and protein requirement. *Proc.Nutr.Soc.*, v.53, p.223-40, 1994.

- MOHAN, S., BAUTISTA, C. M., WERGEDAL, J., BAYLINK, D. J. Isolation of an inhibitory insulin-like growth factor (IGF) binding protein from bone cell-conditioned medium: A potential local regulator of IGF action. *Proc.Natl.Acad.Sci.,USA*, v.86, p.8338-8342, 1990.
- MORREL, B. FROESCH, E.R. Fibroblast as an experimental tool in metabolic and hormone studies. II Effect of insuline and nonsuppressible insulin-like activity (NSILAS) on fibroblast in culture. *Eur. J. Clin. Invest.*, v.3, p.119-23, 1973.
- MORTIMORE, G.E., POSO, A.R. Intracellular protein catabolism and its control during nutrient deprivation and supply. *Ann.Rev.Nutr.*, v.7, p.539-64, 1987.
- MUNRO, N.N. & FLECK, A. The determination of nucleic acids. *Methods. Biochem. Anal.*, v.14, p.113-76, 1966.
- NEWSHOLME, E.A., LEECH, A.R. *Biochemistry for the medical sciences*. New York, John Willey, 1988.
- OCLOO, E. Chronic undernutrition and the young. *Proc.Nutr.Soc.*, v.52, p.11-7, 1993.
- PABLO, F., SCOTT, L.A., ROTH, J. Insulin and Insulin-like growth factor-I in early. *Endocrine Rev.*, v.11, p.558-77, 1990.
- PELL, J. M. & BATES, P. C. The nutritional regulation of growth hormone action. *Nutr.Res.Rev.*, v.3, p.163-192, 1990.

- PHILLIPS, L.S. & VASSILOPOULOU-SELLIN, R. Nutritional regulation of somatomedin. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.32, p.1082-96, 1979.
- PHILLIPS, L. S., FUSCO, A. C., UNTERMAN, T. G. Nutrition and somatomedin. XIV. Altered levels of somatomedins and somatomedin inhibitors in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Metabolism.*, v.34, p.765-770, 1985.
- PHILLIPS, L.S., GOLDSTEIN, S., KLEIN, J.D. Somatomedin inhibitors. In: **MOLECULAR and cellular biology of Insulin-like growth factors and their receptors.** D. Le Roith, M.K. Raizada (eds.). New York, Plenum Press, 1989. p.81-95.
- PHILLIPS, L. S., HARP, J. B., GOLDSTEIN, S., KLEIN, J., PAO, C. I. Regulation and action of insulin-like growth factors at the cellular level. *Proc.Nutr.Soc.*, v.49, p.451-458, 1990.
- PIMSTONE, B.L.; BARBEZAT, G.; HANSEN, J.D.L.; MURRAY, P. Studies on growth hormone secretion in protein-calorie malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.21,p.482-7, 1968.
- PREWITT, T.E.; D'ERCOLE, A.J.; SWITZER, B.R.; VAN WYK, J.J. Relationship of serum immunoreactive somatomedin-C dietary protein and energy in growing rats. *J. Nutr.*, v.112, p.144-50, 1982.
- REEVES, P.G., NIELSEN, F.H., FAHEY Jr., G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J.Nutr.*, v.123, p.1939-51, 1993.

- RINDERKNECHT, E., HUMBEL, R. E. Polypeptides with nonsuppressible insulin-like cell growth promoting activity in human serum: isolation chemical characterization and some biological properties of form I and II. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, v.73, p.2365-73, 1976.
- RINDERKNECHT, E., HUMBEL, R. E. The amino acid sequence of insulin-like growth factor-1 and its structural homology with proinsulin. *J.Biol.Chem.*, v.25, p.2769-2776, 1978.
- ROSS, R. J. M. & BUCHANAN, C. R. Growth hormone secretion: its regulation and the influence of nutritional factors. *Nutr.Res.Rev.*, v.3, p.143-162, 1990.
- RUTANEN, E.M, PEKONEN, F. Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Acta Endocrinol.*, v. 123, p. 7-13, 1990.
- SALMON, W. D. & DAUGHADAY, W. H. A hormonally controled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage *in vitro*. *J.Lab.Clin.Med.*, v.49, p.825-836, 1957.
- SALMON, W. R. JR. & DUVALL, M. R. A serum fraction with sulfation factor activity stimulates *in vitro* incorporation of leucine and sulfate into protein-polysaccharide complexes, uridine into RNA, and thymidine into DNA of costal cartilage from hypophysectomized rats. *Endocrinology*, v.86, p.721-727, 1970.
- SARA, V.R., HALL, K. Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol. Rev.*, v.70, p.591-613, 1990.

- SCHALCH, D. S. & CREE, T. C. Protein utilization in growth: effect of calorie deficiency on serum growth hormone, somatomedins, total thyroxine (T4) and triiodothyronine, free T4 index, and total corticosterone. *Endocrinology*, v.117, p.2307-2312, 1985.
- SCHLECHTER, N. L. , RUSELL, S. M., SPENCER, E. M. NICOLL, C. S. Evidence suggesting that the direct growth-promoting effect of growth hormone on cartilage *in vivo* is mediate by local production of somatomedin. *Proc.Natl.Acad.Sci.,USA*, v.83, p.7932-7934, 1986.
- SCHWANDER, J. C., HAURI, C., ZAPF, J., FROESCH, E. R. Synthesis and secretion of insulin-like growth factor and its binding protein by the perfused rat liver: dependence on growth hormone status. *Endocrinology*, v.113, p.297-305, 1983.
- SILVA, G.M.L., TIRAPEGUI,J. Secreção de hormônio de crescimento e nutrição. *Arq. Gastroenterol.*, v.31, p.38-49, 1994.
- SMITH, I. F., LATHAM, M. C., AZUBUIKE, J. A., BUTLER, W. R., PHILLIPS, L. S., POND, W. G., ENWONWU, C. O. Blood plasma levels of cortisol, insulin, growth hormone and somatomedin in children with marasmus, kwashiorkor, and intermediate forms of protein-energy malnutrition. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v.167, p.607-611, 1981.
- SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6.ed. Ames, Iowa State University Press, 1974.
- SNYDER, D.K., CLEMMONS, D.R. Insulin-dependent regulation of Insulin-like growth factors binding protein-1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.71, p.1632-6, 1991.

- SOLIMAN, A. T., HASSAN, A. I., AREF, M.K., HINTZ, R. L., ROSENFELD, R. G., ROGOL, A. D. Serum insulin-like growth factor-I and II concentration and growth hormone and insulin responses to arginine infusion in children with protein-energy malnutrition before and after nutritional rehabilitation. *Pediatr.Res.*, v.20, p.1122-1130, 1986.
- SPENCER, G.S.G. & TAYLOR, A.M. A rapid simplified bioassay for somatomedin. *J. Endocrinol.*, v.78, p.83-8, 1978.
- STRAUS, D. S. & TAKEMOTO, C. D. Effect of dietary protein deprivation on insulin-like growth factor (IGF) I and II. IGF binding protein-2 and serum albumin gene expression in rat. *Endocrinology*, v.127, p.1849-1860, 1990.
- TAWA Jr, N.E., GOLDBERG, A.L. Suppression of muscle protein turnover and amino acid degradation by dietary protein deficiency. *Am.J.Physiol*, 263(Endocrinol. Metab., 26), p.317-325, 1992.
- TAYLOR, A. M., SHARMA, A. K., AVASTHY, N., DUGUID, I. G. M., BLANCHARD, D. S., THOMAS, P.K., DANDONA, P. Inhibition of somatomedin-like activity by serum from streptozotocin-diabetic rats: prevention by insulin treatment and correlation with skeletal growth. *Endocrinology*, v.121, p.1360-1365, 1987.
- TAYLOR, J. A., SALTER, D. N., CLOSE, W. H., LASWAI, G. H., HUDSON, A. Effect of feeding level and sex on nitrogen retention and serum insulin-like growth factor-1 in growing pigs. *Proc.Nutr.Soc.*, v.50, p.62A, 1991.
- THISSEN, J. P., UNDERWOOD, L. E. Translational status of the insulin-like growth factor-I mRNAs in liver of protein restricted rats. *J.Endocrinol.*, v.132, p.141-147, 1992.

THISSEN, J.P., KETELSLEGERS, J.M., UNDERWOOD, L.E.
Nutritional regulation of the insulin-like growth factors.
Endocrine Rev., v. 15, p.80-101, 1994.

TIMSON, B.F. The effect of varying postnatal growth rate on skeletal muscle fiber number in the mouse. *Growth*, v.46, p.36-45, 1982.

TIMSON, B.F. & DUDENHOEFFER, G.A. Effect of increased growth rate during the suckling period on subsequent body weight and muscle weight to body weight ratio. *Growth*, v.49, p.455-69, 1985.

TIRAPEGUI, J. & DE ANGELIS, R. C. Effects of protein deficiency and rehabilitation on growth and tissues composition in growing rat. *Arg.Gastroenterol.*, v.22, p.141-147, 1985a.

TIRAPEGUI, J. & DE ANGELIS, R. C. Marginal protein deficiency in pregnant rat. Changes in offspring body composition. *Arg.Gastroenterol.*, v.22, p.83-87, 1985b.

TIRAPEGUI, J., BALDI, M. Effect of protein deficiency on plasma Insulin-like growth factor (IGF-I) level and proteoglycan synthesis rate in rat skeletal muscle and bone. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION, 15., 1993, Adelaide, Australia. *Abstracts ... Adelaide, 1993, Book 1.* p.99.

TIRAPEGUI, J., CARDOSO, M.A. Response to energy deficiency of plasma Insulin-like growth factor-I level and proteoglycan synthesis rates in rat cartilage. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION, 15., 1993, Adelaide, Australia. *Abstracts ... Adelaide, 1993, Book 1.* p.99.

- TIRAPEGUI, J., YAHYA, Z. A. H., BATES, P. C., MILLWARD, D.J. Effect of corticosterone and energy restriction on IGF-1 levels, cartilage matrix synthesis on bone growth in the rat. *Proc.Nutr.Soc.*, v.46, p.94A, 1987.
- TIRAPEGUI, J., CARDOSO, M.A., CALLEGARO, M.G. Somatomedina, crecimiento e estado nutricional. *Arq. Gastroentol.*, v.27, n.2, p.95-102, 1990.
- TIRAPEGUI, J., BALDI, M., ANDAUR, J.A. Influencia de la proteina de la dieta en el crecimiento muscular y óseo. Estudio en ratas. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2., 1993, Ciudad de México. *Anais ... Ciudad de México, 1993a*, v.2. p.163-171.
- TIRAPEGUI, J., BALDI, M., ANDAUR, J.A. Estudio nutricional y bioquimico de ratas desnutridas y posteriormente recuperadas con proteina de alto valor biológico. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2., 1993, Ciudad de México. *Anais ... Ciudad de México, 1993b*, v.2. p.153-62.
- TIRAPEGUI, J., FUKUSHIMA, S.E., GRIMALDI, G. Consideraciones sobre crecimiento, somatomedina y nutrición. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, v.43, p.94-104, 1993c.
- ULLMAN, M., ULLMAN, A., SOMMERLAND, H., SKOTTNER, A., OLDFORS, A. Effects of growth hormone on muscle regeneration and IGF-I concentration in old rats. *Acta Physiol. Scand.*, v.140, p.521-5, 1990.
- UNDERWOOD, L. E., CLEMMONS, D. R., MAES, M., D'ERCOLE, A.J., KETELSLERGER, J. M. Regulation of somatomedin C /insulin-like growth factor-1 by nutrients. *Hormone Res.*, v.24, p.166-176, 1986.

- UNTERMAN, T. G., PHILIPS, L. S. Glucocorticoid effects on somatomedins and somatomedin inhibitors. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*, v.61, p.618-626, 1985.
- UTHNE, K. & UTHNE, T. Influence of liver resection and regeneration on somatomedin (sulphation factor) activity in sera from normal and hypophysectomized rats. *Acta Endocrinol.*, v.71, p.255-264, 1972.
- VAN WYK, J. J., UNDERWOOD, L. E., HINTZ, R. L., VOINA, S. J., WEAVER, R. P. The somatomedins: a family of insulin-like hormones under growth hormone control. *Rec.Prog.Horm.Res.*, v.30, p.259-318, 1978.
- VASSILOPOULOU-SELLIN, R., FOSTER, P.L., OYEDEJI, C. O., SAMAAAN, N. Cartilage sulfation inhibitor from rat liver: partial characterization of properties and biologic action. *Metabolism.*, v.37, p.38-45, 1988.
- WATERLOW, J.C., GARLICK, P.J., MILLWARD, D.J., Protein turnover in mammalian tissues and the whole body. Amsterdam, North Holland Biomedical Press/Elsevier, 1978.
- WEEKES, T.E.C. Insulin and growth. In: CONTROL and manipulation of animal growth. P.J. Buttery; D.B. Lindsay; N.B. Haynes, eds. London, Butterworths, 1986. p.187-206.
- WHITEHEAD, R.G. & LUNN, P.G. Endocrines in protein-energy malnutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, v.38, p.69-76, 1979.
- WINICK, M., NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J. Nutr.*, v.89, p.300-6, 1966.

- YAHYA, Z. A. H., BATES, P. C., DALAL, S. S., MORELL, D., HOLDER, A. T., TAYLOR, A., MILLWARD, D. J. The effect of dietary protein concentration on bone and muscle growth and immunoreactive somatomedin C in the rat. *Proc.Nutr.Soc.*, v.45, p.107A, 1986.
- YAHYA, Z. A. H., TIRAPEGUI, J.O., BATES, P. C., MILLWARD, D. J. Dietary and hormonal influences on plasma IGF-1 levels in the rat. *J.Endocrinol.*, v.115(Suppl.), p.71, 1987.
- YAHYA, Z. A. H., BATES, P. C., TIRAPEGUI, J. O., MORELL, D., BUCHANAN, C., MILLWARD, D. J. IGF-1 concentration in protein deficient rat plasma and tissue in relation to proteoglycan synthesis rate. *Biochem.Soc.Trans.*, v.16, p.624-625, 1988.
- YAHYA, Z. A., BATES, P. C., TIRAPEGUI, J. O. , MILLWARD, D. J. Influence of dietary protein, energy and corticosterone on the hormonal stimulation of muscle and bone growth. *Biochem.Soc.Trans.*, v.17, p.738-739, 1989.
- YAHYA, Z. A. H., BATES, P. C., MILLWARD, D. J. Responses to protein deficiency of plasma and tissue insulin like growth factor-1 levels and proteoglycan synthesis rates in rat skeletal muscle and bone. *J.Endocrinol.*, v.127, p.497-503, 1990.
- YANG, H., CREE, T. C., SCHALCH, D. S. Effect of a carbohydrate-restricted, calorie-reduced diet on the growth of young rats and on serum growth hormone, somatomedins, total thyroxine and triiodothyronine, free T4 index, and total corticosterone. *Metabolism*, v.36, p.794-798, 1987.

YOUNG, V.R., MARCHINI, J.S. Mechanism and nutritional significance of metabolic responses altered intakes of protein and amino acids with references to nutritional adaptation in human. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.51, p.270-89, 1990.

YOUNG, V.R., MARCHINI, J.S., CORTIELLA, J. Assessment of protein nutritional status. *J. Nutr.*, v.120, p.1496-502, 1990.

ZAPF, J., FROESCH, E.R. Insulin-like growth factor/somatomedins: structure, secretion, biological actions and physiological role. *Hormone Res.*, v.24, p.121-30, 1986.

ZAPF, J., HAURI, C., WALDVOGEL, M., FROESCH, E.R. Acute metabolic effects and half-lives of intravenously administered insulin-like growth factors I and II in normal hypophysectomized rats. *J. Clin. Invest.*, v.77, p.1768-1775, 1986.